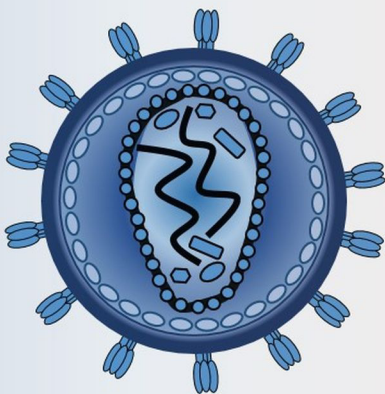
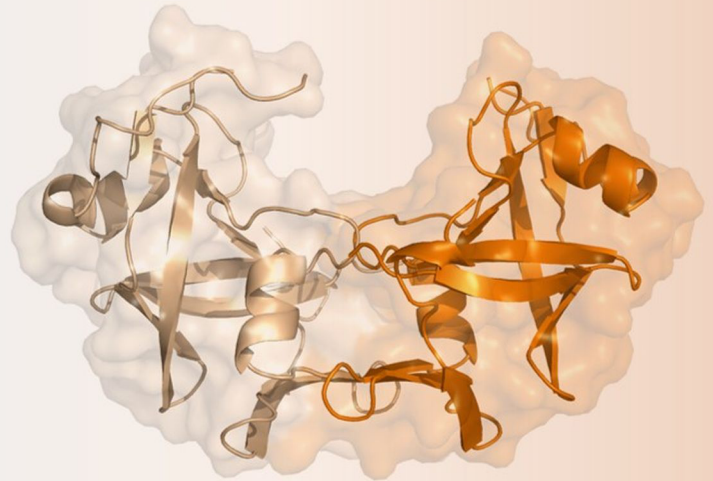
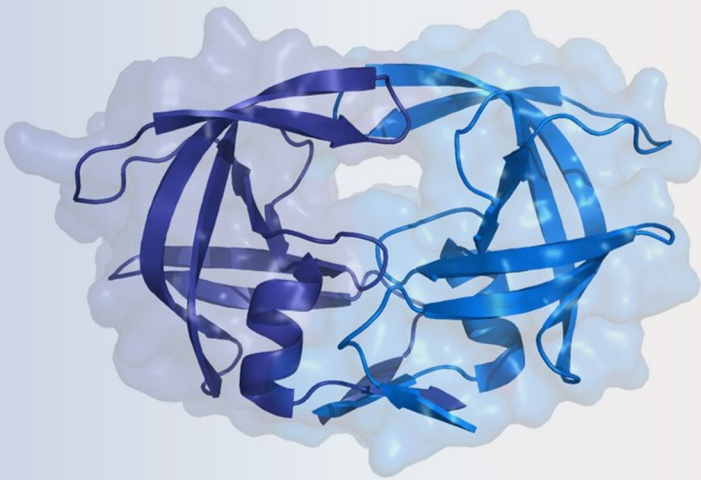
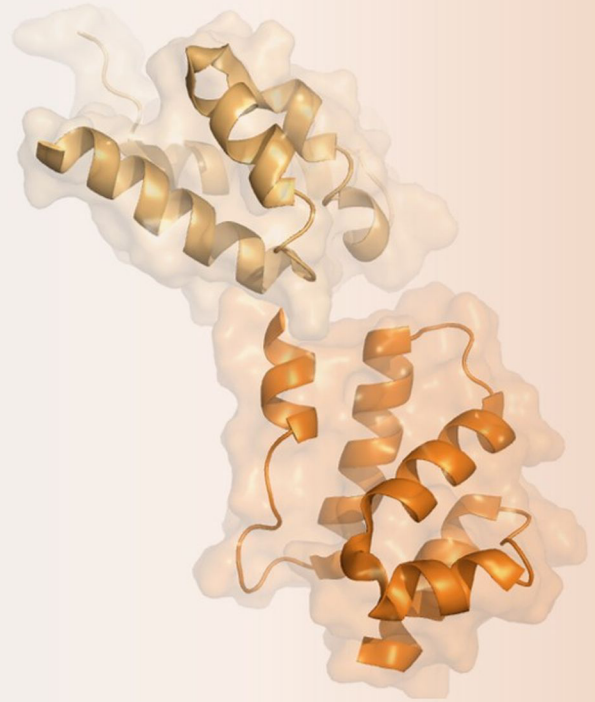
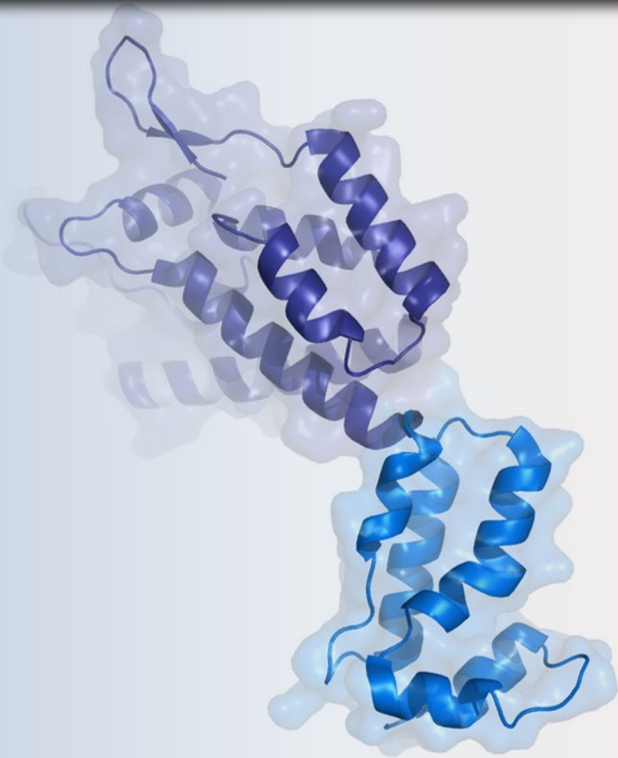


# BIOKÉMIA

A Magyar Biokémiai Egyesület internetes folyóirata

XLVIII. évfolyam 1. szám

2024. március



# BIOKÉMIA

A Magyar Biokémiai Egyesület internetes folyóirata

Szerkesztőbizottság:

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

Főszerkesztő:

Szűcs Mária  
szucs.maria@brc.hu

Rovatvezetők:

Gallyas Ferenc (Fórum)  
Nyitray László (PhD disszertációk bemutatása, FEBS Network szemelvények)  
Sarkadi Balázs (Áttekintő közlemények)

Technikai szerkesztő:

Bérdi Péter  
berdipeter@gmail.com

**XLVIII. ÉVFOLYAM 1. SZÁM**

**2024. március**

## TARTALOMJEGYZÉK

*Címlapkép: Retrovirális és ún. retrovírus-szerű emberi fehérjék szerkezetének összehasonlítása az RCSB PDB adatbázisban elérhető kristályszerkezeti adatok alapján. Az I-es típusú humán immundeficiencia vírus (HIV-1) kapszid (balra fent, 3NTE.pdb) és proteáz (balra középen, 7HVP.pdb) fehérjéi kék, míg a humán aktivitás-szabályozott citoszkeleton-asszociált fehérje (Arc/Arg3.1) kapszid-szerű doménje (jobbra fent, 7R23.pdb) és a humán DNS károsodás indukálta 1 fehérje (Ddi1) proteáz-szerű doménje (jobbra középen, 3S8I.pdb) narancssárga színnel. A retrovírus-szerű fehérjéket bemutató összefoglaló közlemény a 5. oldalon olvasható, az ábrát Mótyán János készítette.*

### AKIKRE BÜSZKÉK VAGYUNK

Kitüntetések, díjak ..... 4.

### REVIEW

Mótyán János András, Tózsér József: Retrovírus-szerű fehérjék az emberi szervezetben ..... 5.

### TUDOMÁNYOS CIKK

Süle Krisztina: Elemösszetétel és redox-homeosztázis vizsgálata növényi, állati és humán szervezetekben ..... 33.

### ÁTTEKINTŐ KÖZLEMÉNYEK AZ MBKE TAGJAINAK TOLLÁBÓL

Felhívás ..... 52.

Lista ..... 53.

Közlemények ..... 54.

### PHD DISSZERTÁCIÓK BEMUTATÁSA

Felhívás ..... 56.

Gerber Dániel: Az archeogenetikai módszertan fejlesztése kísérletes adatok felhasználásával ..... 57.

Wachtl Gerda Gabriella: Aktív és domesztikált piggyBac transzpozázok funkcionális vizsgálata ..... 63.

**A 2023. ÉVBEN MEGJELENT KIEMELKEDŐ KÖZLEMÉNYEK LISTÁJA .... 72.**

### KONFERENCIA HÍREK

A Magyar Biokémiai Egyesület 2024. évi Vándorgyűlése, Budapest ..... 77.

53. Membrán-Transzport Konferencia, Sümeg ..... 78.

### FEBS HÍREK

FEBS: 60 years strengthening the biomolecular sciences community ..... 79.

Bio-Art Image Contest: „The beauty behind biological sciences” .....	80.
<b>FEBS NETWORK SZEMELVÉNYEK</b>	
Nyitray László: Bemutatkozik a „FEBS NETWORK” .....	84.
Szemelvények .....	86.
<b>AKTUALITÁSOK</b>	
Ünnepelt a Debreceni Egyetem Orvosi Vegytani Intézete: 70 éves Dombrádi Viktor és Erdődi Ferenc .....	96.
<b>FÓRUM</b>	
Felhívás .....	101.
Könyvismertető .....	102.



*Kellemes húsvéti ünnepeket kívánunk minden kedves olvasónknak!*

Kiadja a Magyar Biokémiai Egyesület  
1117 Budapest, Magyar tudósok körútja 2.  
<http://www.mbkegy.hu>  
Felelős kiadó Dr. Buday László  
Az engedély száma III/SZI/397/1977  
HU ISSN 2060 8152 (Online) | HU ISSN 0133-8455 (Nyomtatott)

## AZ MBKE TAGJAINAK ELISMERÉSEI 2023. DECEMBER 15. ÉS 2024. MÁRCIUS 15. KÖZÖTT

**Kondorosi Éva** Széchenyi-díjas kutatóbiológus, az MTA rendes tagja, az Academia Europaea alelnöke, a Magyar Kutatási Hálózat kutatóprofesszora nemzetközileg is nagyra értékelt kutatómunkája, különösen a növények és baktériumok együttélésének kutatásában elért nagy jelentőségű eredményei, az általa alapított meghatározó tudományos műhely vezetőjeként végzett tevékenysége, példaértékű tudományos életpályája elismeréseként a **Magyar Érdemrend parancsnoki keresztje polgári tagozat** kitüntetést kapott.

**Simon István** biofizikus, az MTA rendes tagja, kutató professor emeritus a fehérjetudomány terén végzett, világszinten is nagyra értékelt kutatói tevékenysége, iskolateremtő oktatói és tudományos közéleti tevékenysége elismeréseként **Széchenyi-díjban** részesült.

**Magyar Érdemrend parancsnoki keresztje a csillaggal polgári tagozat** kitüntetést kapott **Venetianer Pál** állami díjas biológus, biokémikus, kutatóprofesszor, az MTA rendes tagja és egykori Szegedi Biológiai Központjának igazgatója, a biológia területén végzett kiemelkedő tudományos életpályája, különösen a biokémia és a molekuláris biológia kutatása terén elért, nemzetközileg is figyelmet érdemlő kutatásai, valamint elkötelezett és példaértékű oktatói tevékenysége elismeréseként.

Huszonöt fiatal kutató vehette át idén, az MTA rangos elismerését, az **Akadémiai Ifjúsági Díjat. Ecsédi Pétert**, az Eötvös Loránd Tudományegyetem Biokémiai Tanszék tudományos munkatársát Az S100 fehérjecsald kölcsönhatási hálózatának feltérképezése és kialakított komplexeinek atomi felbontású megismerése című pályamunkájáért díjazták.

**Gratulálunk a kitüntetetteknek!**

## RETROVÍRUS-SZERŰ FEHÉRJÉK AZ EMBERI SZERVEZETBEN

*Mótyán János András, Tózsér József  
Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar,  
Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet*

### Összefoglalás

Az emberi szervezetben számos olyan fehérje expresszáldik endogén módon, melyek egyes doménjei nagyfokú hasonlóságot mutatnak olyan retrovírusok fehérjéivel, mint pl. a humán immundeficiencia vírus (HIV). Az emlősök evolúciója során számos ilyen retro-eredetű gén domesztikálódott, a retrovírus-szerű fehérjék doménjei pedig nem csak a szerkezeti, hanem a működési sajátosságokat tekintve is hasonlítanak a retrovírus és retrotranszpozon fehérjékhez. Egyes emberi fehérjék doménjei homológok a retrovírus részecskék kialakításához nélkülözhetetlen gag szerkezeti fehérjékkel (pl. mátrix, kapszid) vagy az enzimatis aktivitással rendelkező nem-szerkezeti fehérjékkel (pl. proteáz). Az eukarióta szervezetek retrovírus-szerű fehérjéit az elmúlt évtized felfedezései nyomán kezdtük el igazán megismerni, a retrovírus fehérjékkel való szerkezeti és működési homológia meghatározása, továbbá az általános hasonlóságok és különbségek feltérképezése révén. Emellett számos kutatás irányult (pato)fiziológiás jelentőségük meghatározására, de géntranszfer rendszerekben történő alkalmazásuk lehetőségét is vizsgálták. Ezen összefoglaló közlemény célja retrovírus-szerű fehérjék és az őket érintő legújabb felfedezések és a jövőbeli kihívások bemutatása néhány példán keresztül.

### Retrovírus fehérjék

A szerzett immunhiányos tünetegyüttes (AIDS) kialakulásáért felelős humán immundeficiencia vírusok (HIV-1 és HIV-2) a retrovírusok legismertebb képviselői. Az UNAIDS világszervezet adatai alapján 2022-ben világszerte körülbelül 39 millió HIV fertőzöttet tartottak nyilván. A HIV vírus 1980-as években történő azonosítását követően intenzív vizsgálatok kezdődtek a vírus megismerése és hatékony terápiás lehetőségek azonosítása érdekében. Ennek köszönhetően a HIV mára az egyik legrészletesebben ismert (retro)vírussá vált, a megszerzett ismeretek pedig hatékonyan alkalmazhatóak a retrovírusokéval homológ celluláris fehérjék vizsgálatában.

A retrovírusok nagy és igen változatos családjába közepes méretű burkos

vírusok tartoznak, melyek számos különböző emlőst képesek megfertőzni, köztük a főemlősöket és az embert is. A víruscsalád ismertetőjele az a replikációs stratégia, amelynek alapvető lépése a virális RNS DNS-sé történő átírása (reverz transzkripció), majd ennek a sejt genomjába történő „beillesztése” (integráció). Az integrálódott provirális DNS-ről folyamatosan keletkezhetnek új vírusok [1].

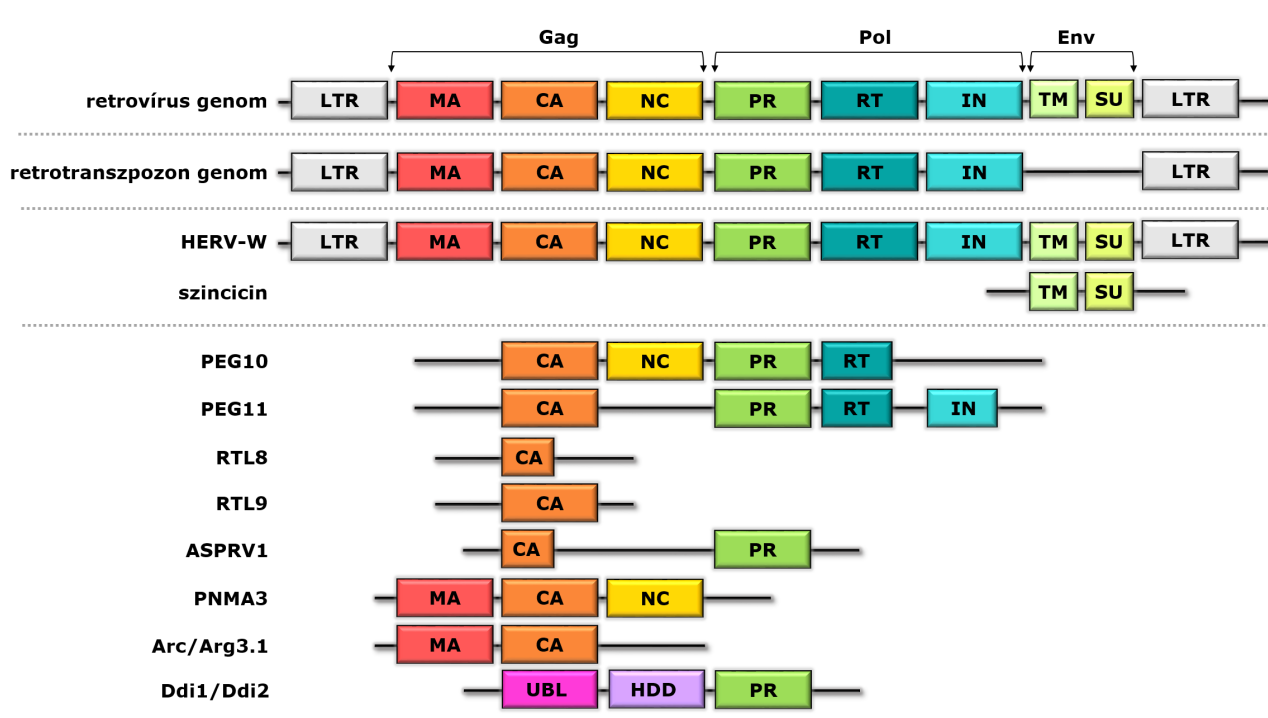
A retrovírusok két, pozitív egyszálú RNS-ből álló genommal rendelkeznek, a kanonikus genom hosszú, több konzervált doménből álló poliproteineket kódol (1. ábra). A *gag* génszakasz (csoportspecifikus antigén, *group-specific antigen*) kódolja a fő szerkezeti fehérjéket: a mátrix (MA), a kapszid (CA) és a nukleokapszid (NC) fehérjéket. Ezek felelősek a membránnal való kapcsolatok kialakításáért, a kapszidburok képzéséért, valamint a virális RNS genom kötéséért. A *pol* génszakasz kódolja a virális enzimeket, így a proteázt (PR), a reverz transzkriptázt (RT), valamint az integrázt (IN). A proteáz felel a poliprotein funkcionális egységekké történő hasításáért (limitált proteolízis), a RT a virális genomi RNS-t írja át DNS-é, melyet az IN illeszt be a gazdasejt genomjába. Az *env* génszakasz az extracelluláris vírusrészecskék kialakításához szükséges felszíni glikoprotein (SU) és transzmembrán fehérje (TM) genetikai információit hordozza [1]. A virális genom ilyen módon történő felépítése az ún. egyszerű retrovírusokra jellemző, azonban a fentebb felsorolt fehérjéken túl az összetett retrovírusok (pl. HIV) genomja további kiegészítő és szabályozó fehérjéket is kódolhat (pl. Tat, Rev), melyeknek szerepe van a génexpresszió szabályozásában, a gazdasejtben való túlélésben, valamint hozzájárulnak a megfelelő fertőzőképesség kialakításához.

### **Retrotranszpozonok és retrovírus-szerű fehérjék**

Az emberi szervezet körülbelül 40%-a változatos, retrovírus- vagy retrotranszpozon-eredetű szekvenciákat tartalmaz, melynek jelentős részére „szemétként” (*junk DNA*) tekintettek. Későbbi vizsgálatok eredménye alapján azonban kiderült, hogy az evolúció során az emlősök által házasított retro-eredetű gének egy része olyan fehérjéket kódol, melyek a retrovirális és retrotranszpozon *gag* szerkezeti fehérjék vagy enzimek homológjainak tekinthetők és működőképességüket részben vagy egészben megőrizték [2, 3].

Az ún. retroelemek csoportjába igen változatos molekuláris entitások tartoznak, melyek minden eukarióta genomjában megtalálhatóak [1]. A sejtek közötti mozgásra képes (exogén) retrovírusokkal ellentétben a hosszú terminális

ismétlődést (*long terminal repeat, LTR*) tartalmazó, mozgékony genetikai elemeknek tekintett ún. LTR-retrotranszpozonok csak sejten belüli mozgásra képesek. Az ún. retrotranszpozíció replikatív módon történik, azaz a folyamat során az eredeti retrotranszpozonról másolat készül. A folyamathoz szükséges fehérjéket a retrotranszpozon genom kódolja, azonban hiányzik belőle a burokfehérjéket kódoló génszakasz (*env*), így az LTR-retrotranszpozonok csak a másolatuknak a genom más pozícióiba történő illesztésére képesek, a sejteket elhagyó extracelluláris részecskéket nem képesek kialakítani. Ezzel szemben a szintén a retroelemek csoportjába tartozó endogén retrovírusok (ERV) tartalmazzák a burokfehérjéket kódoló *env* génszakaszt is (1. ábra).



**1. ábra. Néhány retrovírus-szerű humán fehérje domén-felépítésének összehasonlítása a retrovírusokéval, retrotranszpozonokéval és endogén retrovírusokéval.** MA: mátrix, CA: kapszid, NC: nukleokapszid, PR: proteáz, RT: reverz transzkriptáz, IN: integráz, SU: felszíni glikoprotein, TM: transzmembrán fehérje, LTR: hosszú terminális ismétlődés, UBL: ubikvitin-szerű, HDD: helikális domén. Az ábra részben irodalmi adatok [7, 8] és részben saját elemzések eredménye alapján készült.

Az emberi szervezetben ilyen pl. a HERV-W endogén retrovírus, melynek *env* génjétől származik a placenta kialakulásához nélkülözhetetlen szincicin (*syncytin*, vagy másnéven ERVWE1) fehérje. Az endogén retrovírusok az emberi evolúció korai szakaszában bekövetkezett exogén retrovírus általi fertőzés „lábnyomainak” tekinthetőek. Bár felépítésük alapvetően hasonló a retrotranszpozonokéhoz és retrovírusokéhoz, az evolúció során felhalmozott mutációk következtében elvesztették képességüket „fertőzőképes” vírus-részecskék kialakítására, öröklődésük alapvetően vertikális, míg az exogén

retrovírusokra a horizontális terjedés jellemző [4-6]. A szincicin és más ERV fehérjék tárgyalása meghaladja ezen összefoglaló közlemény kereteit.

Genetikai vizsgálatok az emberi genomban 48, míg az egér genomban 102 gag-eredetű gént azonosítottak. Ezek közül 19 esetben egyértelmű ortológ kapcsolat áll fenn az emberi és az egér gének között, míg a többi gén sokkal inkább faj-specifikusként volt jellemezhető. A gének elemzése alapján a legtöbb eddig vizsgált ilyen, gag-szerű fehérjét kódoló gén az LTR-retrotranszpozonok Ty3/Gypsy családjából származtatható [7, 8]. A legfontosabb humán retrovírus-szerű fehérjék közé sorolhatóak az apai allélról expresszálandó gén (*paternally expressed gene*, PEG) fehérjék (pl. PEG3, PEG10 és PEG11), a paraneoplasztikus Ma antigén (PNMA) család tagjai (pl. PNMA1-8), a retrotranszpozon gag-szerű fehérjék (*retrotransposon Gag-like protein*, RTL), az aktivitás-szabályozott citoszkeleton-asszociált fehérje (Arc/Arg3.1), valamint a retrovírus-szerű aszpartil proteáz 1 (ASPRV1) (1. ábra).

Az emberi fehérjék egy vagy több retrovírus-szerű domént is tartalmazhatnak. Például az Arc/Arg3.1 fehérje MA- és CA-szerű doméneket tartalmaz, míg a PNMA családba tartozó PNMA3 fehérjében emellett egy nukleinsav kötésére képes NC-szerű domén is jelen van. Egyes fehérjék csak a CA-szerű domént tartalmazzák részben (pl. RTL8) vagy egészben (pl. RTL9). A leghosszabb fehérjék a PEG10 és a PEG11, melyek a CA- és a PR-szerű domén mellett a (szekvencia egy részének elvesztése miatt funkcióképtelen) RT-szerű domént is tartalmaznak, de a PEG10-ben ezen felül még egy NC-szerű domén is található (1. ábra). A DNS károsodás-indukálta fehérjék (*DNA damage-inducible protein*, Ddi1 és Ddi2) ugyan nem tartalmaznak a szerkezeti gag fehérjékkel homológ domén(ek)e)t, de fontos tagjai a retrovírus-szerű fehérjék családjának, mert az ubikvitin kötésére képes ubikvitin-szerű (UBL) doménjük mellett proteolitikusan aktív enzimatikus domént is tartalmaznak [9]. Hasonló PR-szerű domént a Ddi1 és Ddi2 fehérjéken kívül kevés humán fehérje tartalmaz, így az ASPRV1, a PEG10 és a PEG11 (1. ábra). A retrovírus-szerű fehérjék doménfelépítése tehát meglehetősen változatos, aminek köszönhetően az emberi szervezetben általuk betöltött funkciók is igen sokfélék lehetnek. Az alábbiakban a retrovírus-szerű domének közül a proteáz- és kapszid-szerű domének sajátosságait mutatjuk be részletesebben.

### **Retrovírus-szerű proteázok**

A retrovírusok proteáza homodimerként aktív aszpartil proteáz (2.A ábra),

melyhez hasonló endogén aszpartil proteázok az emberi szervezetben is megtalálhatóak. Ezek egy része (pl. pepszin) két-lebenyű szerkezeti felépítéssel rendelkezik, mely az evolúció során génduplikáció eredményeképpen jöhetett létre. Más fehérjék esetében viszont a genom csak egyetlen katalitikus domént kódol, mely a retrovírusokra jellemző módon képes homodimer kialakítására (ASPRV1, PEG10, PEG11, Ddi1 és Ddi2) (2.B ábra).

A Ddi1 és Ddi2 fehérjék voltak az elsők (és a mai napig az egyetlenek), melyek retrovírus-szerű proteáz doménjének szerkezetét röntgen-kristallográfiával meghatározták (1. táblázat), jelentősen hozzájárulva a retrovírus-szerű fehérjék megismeréséhez. Ezek a szerkezeti információk biztosítottak lehetőséget kutatócsoportunk, a Retrovirális Biokémiai Kutató Laboratórium számára arra, hogy homológ modellezéssel becsüljük meg a PEG10 [10], az ASPRV1 [11], valamint a Ty1 retrotranszpozon [12] PR-szerű doménjének negyedleges szerkezetét.

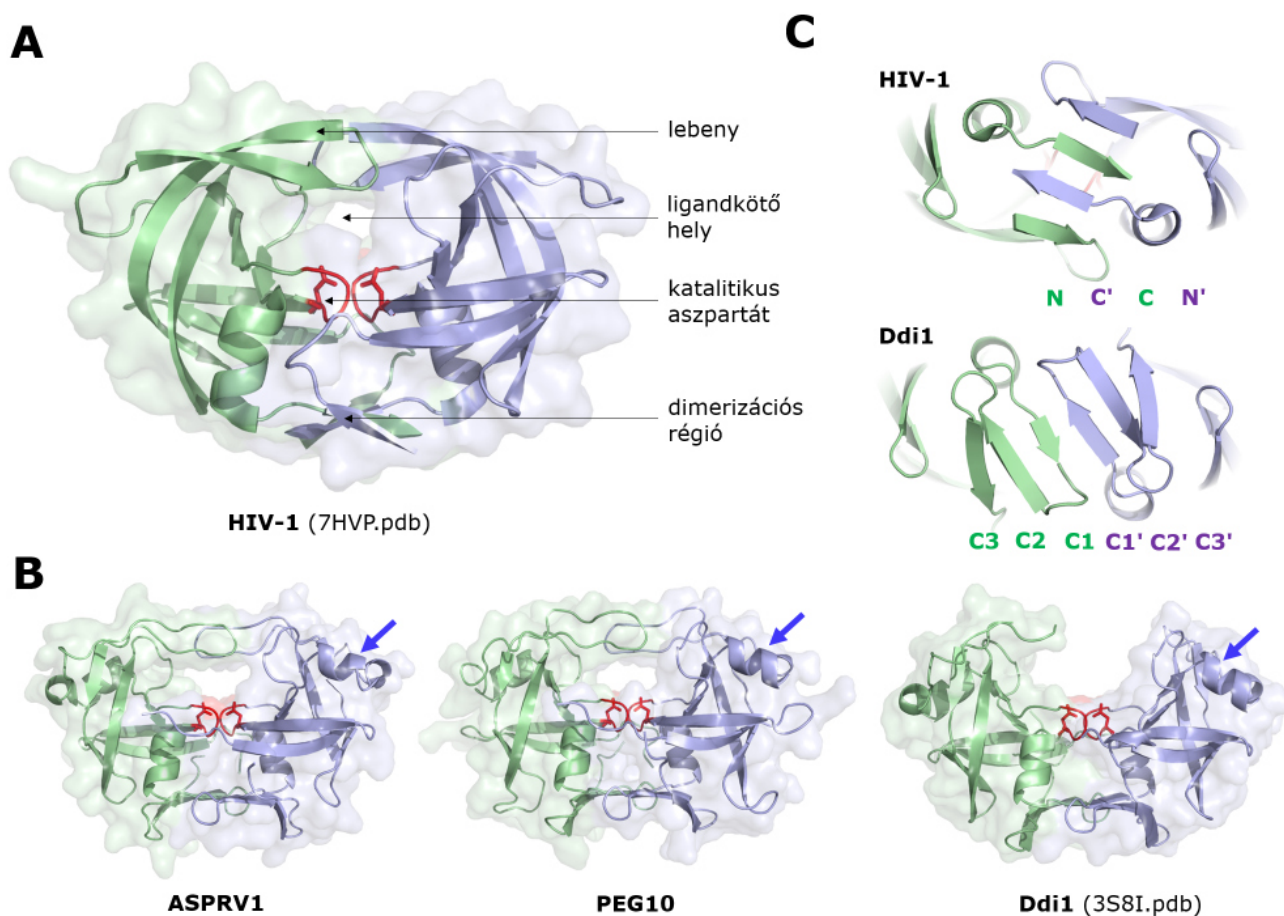
**1. táblázat. Humán retrovírus-szerű fehérjék szerkezeti koordinátái az RCSB PDB adatbázisban.**

Fehérje	Eredet	Domén	PDB ID	Módszer	Hivatkozás
PEG10	humán	CA-szerű	7LGA	X-ray	[13]
PNMA4 (MOAP1)	humán	CA-szerű	7LGC	X-ray	[13]
Arc/Arg3.1	humán	CA-szerű	6TN7	X-ray	[14]
		CA-szerű	6TNQ	X-ray	[14]
		CA-szerű	6TQ0	X-ray	[14]
		N-terminális coiled-coil	6YTU	X-ray	[15]
		CA-szerű	7R1Z	X-ray	[16]
		CA-szerű	7R23	X-ray	nem elérhető
Ddi1	humán	PR-szerű	3S8I	X-ray	nem elérhető
Ddi2	humán	UBL	2N7D	NMR	[17]
		PR-szerű	4RGH	X-ray	[17]
		HDD	5K57	X-ray	[17]
Ty3	retro-transzpozon	CA-szerű	6R22	EM	[18]
		CA-szerű	6R23	EM	[18]
		ikozahedrális CA	6R24	EM	[18]

A táblázat csak humán fehérjékre vonatkozó adatokat tartalmaz, más ortológ fehérjék adatait nélkülözve és kiegészítve a Ty3 retrotranszpozon fehérje szerkezetekkel. A szerkezetek feloldása különböző kísérletes eljárásokkal történt: röntgenkristallográfia (X-ray), elektronmikroszkópia (EM) vagy mágneses magrezonancia (NMR). CA: kapszid, PR: proteáz, UBL: ubikvitin-szerű, HDD: helikális domén.

A retrovirális és a retrovírus-szerű fehérjék proteáz doménjei nagymértékű szerkezeti hasonlóságot mutatnak annak ellenére is, hogy a szekvenciák közti hasonlóság mértéke igen alacsony. Ez megfigyelhető az egymással közeli rokonságot mutató retrovirális proteázok esetében is. Például a HIV-1 és HIV-2

vírus proteázok közti szekvencia-azonosság mértéke is meglehetősen alacsonynak tekinthető (kevesebb mint 50%). A retrovírus és retrovírus-szerű proteázok szekvenciájának és szerkezetének sajátosságai is jó összhangban vannak az evolúciós rokonsági viszonyokkal és jellemző eltérések mutatkoznak pl. a dimerizációs régió felépítésében, valamint a homodimereket stabilizáló kölcsönhatásokban is. A retrovirális és a retrovírus-szerű proteázok általános hasonlóságainak és különbségeinek feltérképezése érdekében kutatócsoportunk átfogó szerkezeti összehasonlító elemzést végzett [19], melynek legfontosabb megfigyeléseit az alábbiakban mutatjuk be.



**2. ábra. Retrovírus és retrovírus-szerű proteázok szerkezetének összehasonlítása. A)** A HIV-1 PR szerkezete. Az ábrán az egyes monomereket zöld és kék, míg a konszenzus aktív hely motívumot piros színnel jelöltük, a katalitikus aszpartátok pálcika-megjelenítéssel vannak kiemelve. **B)** Az ábra a proteáz domének szerkezetét mutatja az ASPRV1 [11] és PEG10 [10] esetében homológ modell szerkezetek, míg a Ddi1 PR esetében kristályszerkezeti adatok alapján. A kék nyilak a retrovírus-szerű proteázok lebenyéhez közeli  $\alpha$ -helikális szakaszt mutatják, mely nincs jelen a HIV-1 PR-ban (és a legtöbb retrovirális PR-ban sem). **C)** A homodimer HIV-1 és Ddi1 PR  $\beta$ -redős szerkezetű dimerizációs régiójának összehasonlítása. Az egyes monomerekhez tartozó N- és C-terminális antiparalell  $\beta$ -szálak (N és N1, valamint C és C') zöld és kék színűek.

A rendelkezésre álló kísérletes információkat is figyelembe véve a dimerizációs régió felépítése hatással van a funkcionális homodimer stabilitására. Míg a legtöbb retrovirális proteáz dimerizációs régióját jellemzően a monomerek

alternáló N- és C-terminális  $\beta$ -redői építik fel, addig a retrovírus-szerű proteázok esetében ez a régió kizárólag C-terminális  $\beta$ -szálakat tartalmaz (2.C ábra). Mivel utóbbiak esetében a  $\beta$ -szálak nem fűződnek egymásba, a monomerek közti kölcsönhatások sűrűsége kisebb, ami alacsonyabb *in vitro* dimer-stabilitást eredményez, pl. a HIV-1 PR-hoz képest.

Jellemző eltérést mutat továbbá a retrovírus proteázok erősen konzervált D-S/T-G-A katalitikus motívuma is. A katalitikus aszpartát mellett elhelyezkedő Ser vagy Thr aminosavnak fontos szerepe van a monomereket összekapcsoló ún. „tűzoltó-fogás” kölcsönhatás kialakításában. A HIV-1 PR esetében végzett kísérletes mutációs vizsgálatok igazolták, hogy a monomerek közti kapcsolat gyengébb, ha a „tűzoltó-fogás” szerint tartalmaz treonin helyett. A retrovirális proteázok túlnyomó többsége Thr-t tartalmaz az aktív hely katalitikus motívumában, míg a retrovírus-szerű proteázok esetében jellemzően Ser van jelen, ami részben magyarázhatja az utóbbiakra jellemző relatíve alacsonyabb dimer-stabilitást.

A Ddi1 és Ddi2 PR esetében figyelték meg először, hogy a homodimer aszpartil proteáz aktív helyét elfedő lebenyeik konformációja alapvetően különbözik a retrovirális proteázokétól [17]. Utóbbiak lebenyei az enzim ligand-kötött állapotában az aktív hely fölé hajolva helyezkednek el, tulajdonképp lefedve azt. Ezzel szemben - az eddig rendelkezésre álló kristályszerkezeti adatok alapján - a retrovírus-szerű proteázok alapvetően eltérő lebeny-konformációt mutatnak, lebenyeik az aktív helyet nem fedik le, így az az enzim felszíne felé nyitottabb állapotban marad (2.A, B ábra). A lebenyek sajátosnak tekinthető konformációja arra utalhat, hogy a szubsztrát-felismerés és -kötés módja némileg különbözhet a retrovirális proteázokétól.

A retrovírus-szerű proteázok esetében megfigyelhető a lebenyek közelében elhelyezkedő  $\alpha$ -helikális szakasz jelenléte is (2.B ábra). Ennek a helikális szakasznak a „beékelődése” a lebenyek közeli hurokba nem jellemző a retrovirális proteázokra, a mai napig az egyetlen ismert kivétel a lovak fertőző kevésvérűségét okozó vírus (*equine infectious anemia virus*, EIAV) proteáza [19]. Ennek az  $\alpha$ -helikális szakasznak a funkcionális jelentőségét és esetleges szerepét a sajátos lebeny-konformáció kialakításában (és ezáltal közvetve a ligand-felismerésben) napjainkig még nem sikerült felderíteni.

A működési sajátságok esetében is megfigyelhetők általános hasonlóságok és

különbségek. A retrovirális proteázokhoz hasonlóan az eddig részletesen vizsgált retrovírus-szerű enzimek (Ty1 és ASPRV1 PR) sem rendelkeznek konzervált hasítóhely szekvenciával, és nagyfokú preferenciát mutatnak hidrofób P2 aminosavak iránt. pH optimumuk jellemzően magasabb a HIV-1 PR-éhoz képest (semlegeshez közeli), aminek a celluláris működési környezethez való alkalmazkodás lehet az oka.

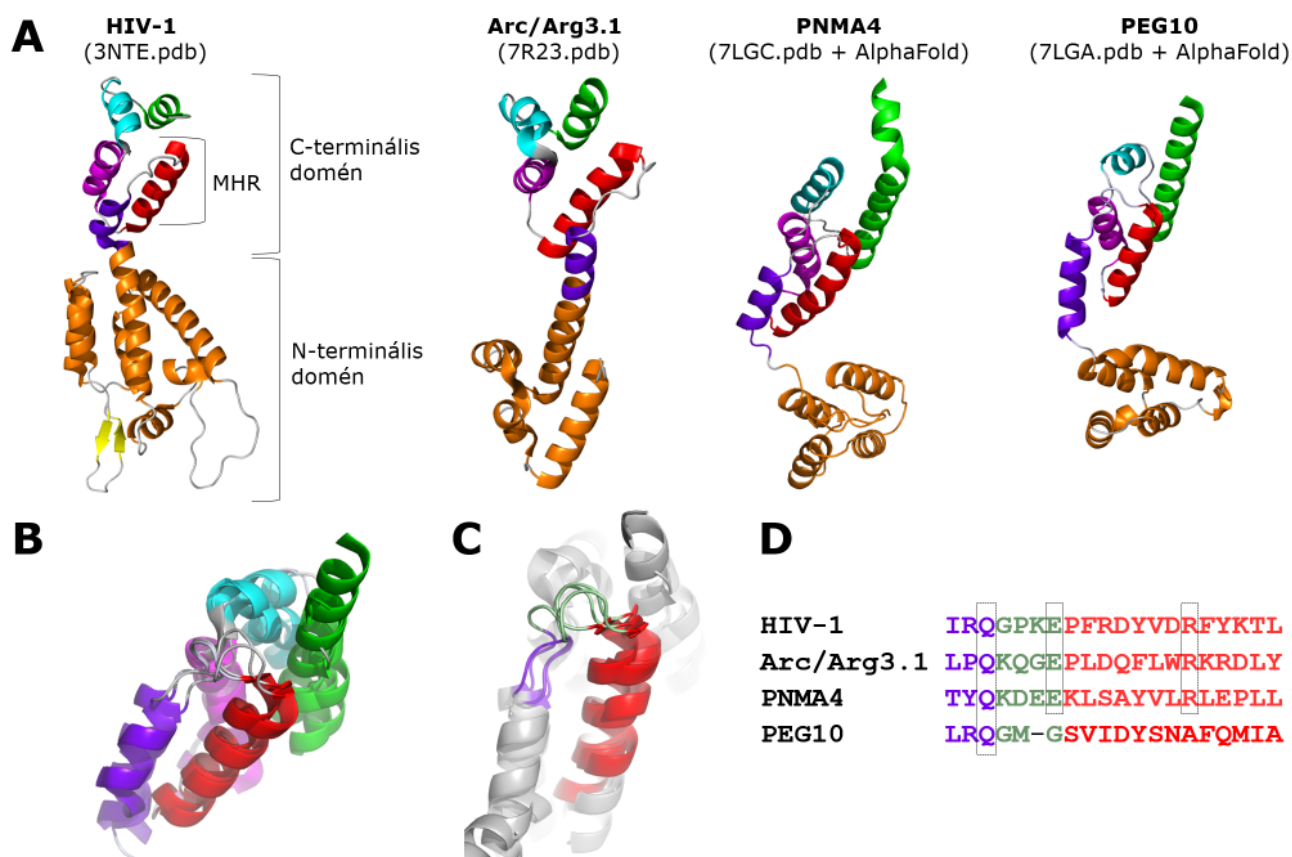
A retrovírus proteázok - mint a HIV-1 PR is - a Gag és Gag-Pro-Pol poliproteineket több helyen is meglehetősen specifikus módon hasítják, ami funkcionális fehérjéket eredményez. A proteolitikus processzálas következtében maga a proteáz is felszabadul a poliproteinből, ami megnöveli az aktivitását (auto-aktiváció). Az eddigi ismereteink alapján az ASPRV1 is azonos módon működik, a 14 kDa méretű proteáz domén a 37 kDa méretű teljes hosszúságú prekursor fehérjéből szabadul fel autoproteolízissel [20]. A HIV PR-hoz hasonlóan a szabad proteáz aktivitása nagyobb, mint a poliprotein részeként működő enzimnek [11]. Érdekes, hogy a Ddi1 [17], a Ddi2 [21] és PEG10 [10] szintén multidomén fehérjék (1. ábra), de az eddigi vizsgálatok eredménye alapján proteáz doménjük a teljes hosszúságú fehérje részeként működik anélkül, hogy az enzim kihalásánál magát a fehérjéből. Érdekes, hogy a PEG10 esetében is történik ugyan autoproteolízis, de ennek a proteolitikus eseménynek a feladata nem a proteáz domén felszabadítása a fehérjéből, így tulajdonképpen nem történik auto-aktiváció [10, 22].

### **Gag-szerű domének**

A 231 aminosavból álló HIV-1 CA fehérje alapvetően helikális szerkezetű, egy N- és egy C-terminális domént tartalmaz, melyeket egy rövid, flexibilis linker szakasz köt össze (3. ábra). A C-terminális domén felelős a dimerizációért, ez tartalmazza a fő homológ régiót is (MHR, *major homology region*) [23]. A MHR egy 20 aminosav hosszúságú régiót foglal magába, mely egy rövid helikális szakaszt is tartalmazó, hidrogén-kötések által stabilizált szerkezeti motívum. Az MHR erősen konzervált a retrovírusok és a Ty3 retrotranszpozon esetében egyaránt, fontos szerepe van a replikációs ciklusban, többek között a gag szerkezetének stabilizálása, valamint a virális és celluláris faktorokkal való kölcsönhatások kialakítása által [24].

A gag-szerű doméneket tartalmazó fehérjék szerkezeti sajátosságait és evolúciós rokonsági kapcsolatait elsősorban a gének vizsgálata alapján kezdték el megismerni [5, 7, 8], de igazán nagy előrelépést az elmúlt évek kísérletes

vizsgálatai jelentettek, melyek először nyújtottak betekintést a CA-szerű domének szerkezetébe (1. táblázat). Az Arc/Arg3.1 volt az első humán fehérje, mely esetében leírták, hogy gag-szerű doménje nagyfokú hasonlóságot mutat a HIV-1 és Ty3 retrotranszpozon CA fehérjékkel [25], majd szerkezeti vizsgálatok további fehérjék, így a PEG10 és PNMA4 (másnéven MOAP1) esetében is igazolták a homológiát [13] (3. ábra). Mára a szerkezet-becslési módszerek fejlődésének köszönhetően (AlphaFold) mindegyik retrovírus-szerű fehérje esetében elérhetőek szerkezeti információk, köztük az RTL család tagjai esetében is (pl. RTL5 és RTL6) [3].



**3. ábra. Retrovírus és retrovírus-szerű fehérjék szerkezeti doménjeinek összehasonlítása.** **A)** A HIV-1 CA és retrovírus-szerű fehérjék CA-szerű doménjének szerkezete. A C-terminális domének szerkezete kristályszerkezeti adatok, míg a PNMA4 és a PEG10 fehérjék N-terminális doménje modell szerkezetek (AlphaFold) alapján van feltüntetve. A C-terminális domén egymásnak megfelelő  $\alpha$ -héliceit azonos színekkel, az N-terminális doméneket egységesen narancssárga színnel jelöltük. **B)** Az ábrán szereplő fehérjék C-terminális doménjeinek illesztése. **C)** Az MHR régiók illeszkedése a C-terminális doménon belül. **D)** Az MHR régiók szekvenciáinak illesztése. Az MHR régióon belül a stabilizáló hidrogén-kötések kialakításáért felelős aminosavak be vannak keretezve.

A CA és CA-szerű domének C-terminális lebenye alapvetően öt hélixet tartalmaz, melyek elrendeződése nagymértékben hasonló. A C-terminális hélix hossza egyes gag-szerű doménekben a HIV-1 CA-hoz képest jelentősen hosszabb lehet (3.A ábra, zöld színnel jelölve). Az MHR régió is nagyfokú szerkezeti

hasonlóságot mutat, még a relatíve alacsony ( $\leq 30\%$ ) szekvencia-azonosság ellenére is [13, 18] (3.C, D. ábra). Emlékeztetőül, a szekvenciák közti kismértékű hasonlóság ellenére magas szerkezeti konzerváltság a retrovírus és retrovírus-szerű proteáz doménekre is jellemző [19].

### **Jelentős retrovírus-szerű fehérjék bemutatása**

Az elmúlt két évtizedben jelentősen gyarapodtak ismereteink a retrovírus-szerű fehérjékre vonatkozóan, azonosították a fehérjét kódoló gének eredetét, feltérképezték működési és szerkezeti sajátágaik számos aspektusát, de vizsgálták gyakorlati alkalmazhatóságukat, valamint klinikai és terápiás jelentőségüket is. Az alábbiakban néhány ilyen fehérje kerül bemutatásra, kiemelve az elmúlt évek legfontosabb felfedezéseit, perspektívákat, valamint a jövőben megválaszolandó kérdéseket.

### **Az aktivitás-szabályozott citoszkeleton-asszociált fehérje (Arc/Arg3.1)**

Ismert, hogy a gerincesek agyában számos retrotranszpozon- vagy retrovírus-eredetű gén expresszálódik endogén módon, ilyen génről keletkezik az Arc/Arg3.1 fehérje is, mely hasonló a retrovírusok CA-jához [8]. Az Arc fehérjét egy 2006-os bioinformatikai vizsgálat során azonosították, mint annak a 103 humán fehérjének az egyikét, mely homológiát mutat a retrovirális gag fehérjékkel [7]. Az Arc fehérje MA- és CA-szerű doméneket egyaránt tartalmaz. Az N-terminálison elhelyezkedő MA-szerű doménje két hélixből áll (csavart-csavar, azaz *coiled-coil*), így szerkezete alapvetően eltér a globuláris felépítésű HIV-1 MA fehérjéjétől [26]. Ezzel szemben CA-szerű doménje nagymértékben hasonló a retrovírus CA fehérjéhez, ugyanúgy tartalmazza az N- és C-terminális doméneket (3. ábra). Elsőként az Arc fehérje esetében írták le részletesen, hogy a retrovírusokéhoz hasonló gag-szerű doménje révén képes oligomerizációra és RNS molekulák becsomagolására, valamint a sejteket elhagyni képes vírus-szerű részecskék kialakítására [25]. Ezeket a szakirodalomban vírus-szerű részecskének (*virus-like particle, VLP*), extracelluláris vezikulának (*extracellular vesicle, EV*) vagy kapszid-szerű részecskének (*capsid-like particle, CLP*) egyaránt nevezik. Ebben a közleményben VLP-ként hivatkozunk rájuk.

Az extracelluláris részecskék kialakítására való képesség azonosítása azért is volt érdekes felfedezés a retrotranszpozon-eredetű humán Arc esetében, mert hasonló részecskék kialakítása korábban nem volt ismert az élesztő Ty1 retrotranszpozon esetén [27]. A retrovírusokkal ellentétben a Ty1 nem

rendelkezik a burokfehérjéket kódoló *env* génnel, ezért életciklusa teljes mértékben intracelluláris. Bár a Ty1 genom is kódol MA- és CA-szerű fehérjéket, életciklusa során mégsem hoz létre a sejteket elhagyni képes extracelluláris részecskéket.

Az Arc oligomerizációjában nem kizárólagosan a CA-szerű domén vesz részt, a MA-szerű N-terminális doménnek is kulcsszerepe van az önszerveződésben [26, 28], de szükséges hozzá nukleinsavval való kölcsönhatás kialakítása is. Érdekes, hogy az Arc fehérje annak ellenére képes RNS kötésére, hogy nem tartalmaz DNS-kötő motívumot, azaz hiányzik belőle a cink-ujjat tartalmazó NC-szerű domén. Míg a HIV-1 gag esetében cink-ujj motívum felel a nukleinsavval való kölcsönhatások kialakításáért, addig az Arc esetében az oligomerizációért felelős domén pozitívan töltött régiója látja el ugyanezt a feladatot. A HIV-1 gag fehérjéhez hasonló módon az Arc önszerveződését is elősegíti az RNS kötése, de az elektrosztatikus kölcsönhatások nem biztosítják az mRNS szekvencia-specifikus felismerését [15].

Az Arc fehérjék által kialakított kapszidok a sejtekről lefűződve hoznak létre extracelluláris VLP-eket, amiket recipiens sejtek endocitózis-függő módon képesek felvenni, majd a részecskék által szállított mRNS-ről fehérjét készíteni [25]. Az Arc fehérje a szinaptikus plaszticitás intracelluláris mechanizmusainak dinamikus szabályozójaként ismert. Az extracelluláris VLP-k kialakítására való képessége fontos szerepet tölthet be az idegrendszeri sejtek közötti kommunikációban, melyet intakt emberi agysejtek esetében még nem igazoltak egyértelműen.

A retrovírus-szerű fehérjék közti homológia [7] alapján feltételezhető volt, hogy a rokon fehérjék hasonló szerkezeti és működési sajátosságokat mutathatnak, ezért az Arc fehérje esetében feltárt sajátosságok és mechanizmusok megismerése képezte az alapját további fehérjék vizsgálatának is [3, 8, 13, 22, 29, 30].

### **Az apai allélről expresszálandó gén 10 (PEG10) fehérje**

A PEG10 fehérjének fontos szerepe van a placenta fejlődéséhez szükséges folyamatokban, olyannyira, hogy deléciója embrionálisan letális [3]. Ez a felfedezés az elsők között világított rá arra, hogy evolúciósan konzervált retrotranszpozon-eredetű gének alapvető szerepet tölthetnek be az emlősök fejlődésében. A *PEG10* „retro-eredetét” támasztja alá többek között egy, a

celluláris gének esetében ritkaságnak számító translációs mechanizmus megléte is, mely a retrotranszpozonokra és retrovírusokra egyaránt jellemző. A programozott -1 irányú riboszómális kereteletolódás révén a PEG10 génről két fehérje is átíródhat. Ha csak az első olvasási keretről történik fehérje szintézis, a transláció megáll és egy rövidebb fehérje keletkezik („*reading frame 1*”, RF1). Amennyiben kereteltolódás történik, az átírás folytatódik és egy hosszabb, az ún. RF2 részt is tartalmazó fehérje keletkezik, melyet RF1/RF2-nek hívunk. Az RF1 a gag-szerű, míg az RF2 a PR-szerű domént tartalmazza [31]. A PEG10 az egyik legnagyobb méretű retrovírus-szerű fehérje az emberi szervezetben, mely CA-, NC-, PR- és RT-szerű doméneket egyaránt tartalmaz. Ezek közül a RT domén az evolúció során elvesztette funkcióját. Hasonlóan nagyméretű a PEG11 is, azonban a PEG10-zel ellentétben nincs szükség a kereteltolódási mechanizmusra a teljes hosszúságú fehérje keletkezéséhez. Az alapvetően hasonló domén-felépítés ellenére a két fehérje közti szekvencia homológia igen alacsony mértékű (~20-30%), ami eltérő funkcionális sajátosságokra utal [2].

A PEG10 CA-szerű doménjének szerkezeti és működési sajátosságait csupán az elmúlt néhány év kutatásai tárták fel. Bár a fehérje retrotranszpozon-eredete - mely alapján feltételezhető volt a retrovírus fehérjékkel való homológia - ismert volt korábban is, kísérletes szerkezetvizsgálatok csak 2022-ben szolgáltatottak egyértelmű bizonyítékot arra vonatkozóan, hogy a PEG10 CA-szerű domén szerkezete nagymértékben konzervált és hasonló a HIV-1 CA fehérjéjéhez [13] (3. ábra). A kísérletes vizsgálatok igazolták a hasonlóságokat a működési sajátosságok esetében is; kimutatták, hogy a HIV-1 retrovírus CA-hoz és az Arc fehérjéhez hasonlóan a PEG10 is képes önszerveződésre és VLP-k kialakítására [8].

A proteáz domén működését már a PEG10 fehérjét célzó első kutatások is vizsgálták [31], mely azóta további kutatásoknak is célpontját képezte [10, 22, 32]. A CA-szerű doménhez hasonlóan a PR-szerű domén is nagymértékű szerkezeti hasonlóságot mutat a retrovírus proteázokkal [10], de bizonyos tulajdonságai inkább a retrovírus-szerű proteázokéhoz hasonlítanak (pl. Ddi1 és Ddi2) [19].

A PEG10 proteáz doménje a jelenlegi ismereteink alapján a fehérje autoprocesszálását végzi, az RF1/RF2 fehérje részeként termelődő aktív enzim képes az RF1/RF2 hasítására, azonban a retrovírus proteázokkal ellentétben az enzim nem hasítja ki magát a teljes fehérjéből. A retrovírusok esetében a

poliprotein processzálása nélkülözhetetlen a fertőzőképes virionok kialakításához. Bár az eddigi eredmények alapján a proteáz aktivitás a PEG10 működésében is kulcsszerepet játszik, autoproteolízise érdekes módon nem előfeltétele a VLP-k kialakításának [22]. Annak ellenére, hogy az extracelluláris VLP-k képzésére az inaktivált proteáz domént tartalmazó PEG10 fehérje is képes, a proteolitikus aktivitás szükséges a fehérje működéséhez, mert az önhasítás elmaradása nem csak a hasítatlan PEG10 felhalmozódásához vezet, de megakadályozza a cink-ujj-tartalmú fehérjerész felszabadulását, ami nélkül a PEG10 nem képes bizonyos gének transzkripcióját beindítani [22]. A PEG10-nek fontos szerepe van a placenta kapilláris-hálózatának kialakításában és fenntartásában, mely súlyos, akár letális következményekkel jár a proteáz aktivitás hiányában [33]. Érdekes, hogy a PEG10 szoros együttműködésben van egy másik retrovírus-szerű fehérjével, a PEG11-el (másnéven RTL1), mindkettőnek fontos szerepe van az emlősök egyedfejlődése során, többek között a placenta fejlődésében [2, 3, 34].

A PEG10 cisz és transz proteolitikus aktivitásának jelentőségét több kutatás is alátámasztotta már [10, 22, 31], azonban a mai napig sem ismert a proteáz egyetlen természetes hasítóhelye sem. Eddig kizárólag számítógépes vizsgálatokkal próbálták megbecsülni a lehetséges hasítási pozíciókat, a kísérletesen azonosított autoproteolitikus fragmentek mérete alapján. Black és munkatársai a Ty3 retrotranszpozon esetében kísérletesen igazolt hasítási szekvenciák hidrofobicitási profilját alapul véve végeztek becslést [22]. Kutatócsoportunk a hasítóhely becsléshez a PEG10 proteáz homológ modelljét vette alapul, a lehetséges hasítóhelyekre a szubsztrátkötő zsebek és az egyes helyekre bekötődő oldalláncok mérete alapján következtettünk [10]. Mindkét vizsgálat alapján a PEG10 autoproteolitikus helye a cink-ujj motívumot tartalmazó NC-szerű domén közelében található, ami összhangban van azon kísérletek eredményével, melyek a DNS-kötő fehérjerész kihaladásának fontosságára utalnak.

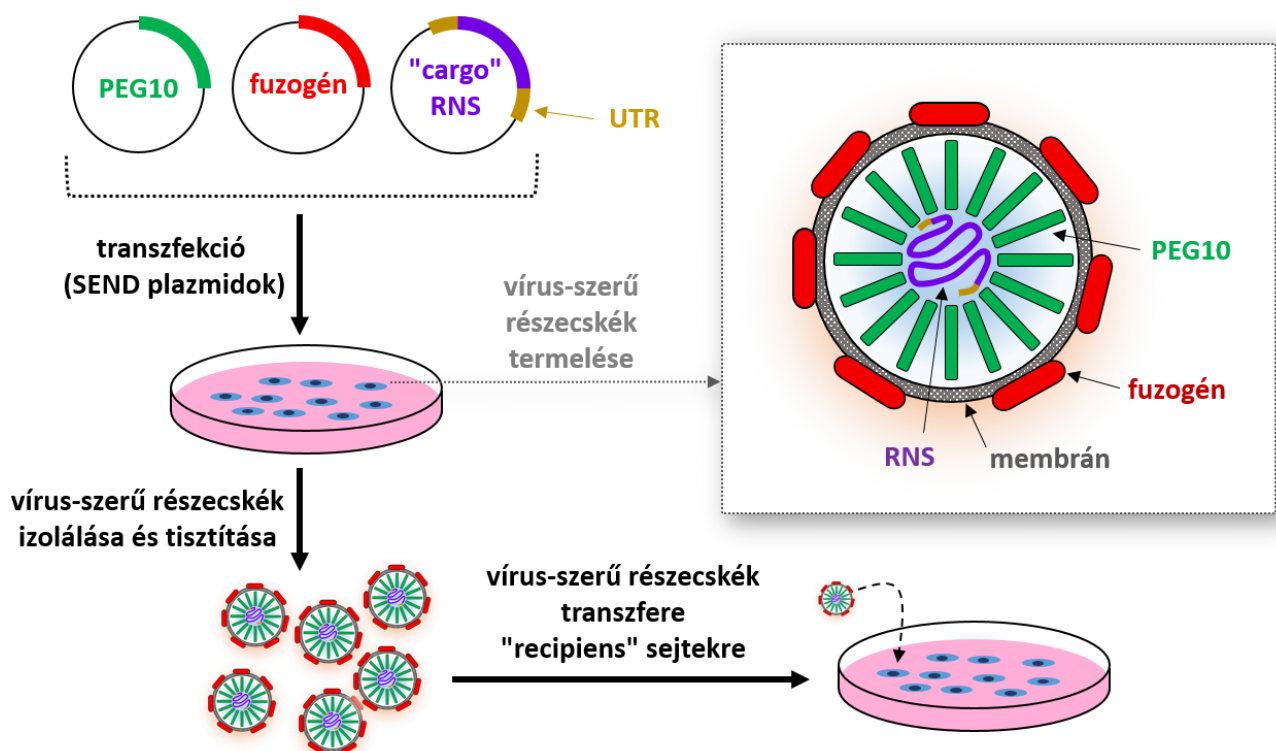
A PEG10 számos szövetben termelődik endogén módon, azonban fokozott expresszióját számos rákos megbetegedés, többek között hepatocelluláris karcinóma és emlőrák esetében is leírták már [35]. A legújabb kutatások a PEG10-et egy neurodegeneratív betegségben, az amiotróf laterális szklerózisban (ALS-ben) is a leginkább megváltozott expressziót mutató fehérjeként azonosították [22], de patofiziológiás jelentőségét igazolták egy idegrendszeri fejlődési rendellenesség, az Angelman szindróma esetében is

[36]. Számos kutatás beszámolt arról, hogy a PEG10 túltermelése elősegíti a rákos sejtek proliferációját, a sejtosztódási képesség fokozása és az apoptózis gátlása révén egyaránt, valamint hozzájárul a metasztázis-képzéshez is, ami miatt potenciális prognosztikai biomarkerként tekintenek rá [35]. A PEG10 túltermelésének sejtekre gyakorolt hatását kutatócsoportunk is vizsgálta, melynek során megállapítottuk, hogy a PEG10 túltermelése csökkenti HEK293T sejtek életképességét és fokozza azok proliferációját. Érdekes módon ez a hatás nem volt megfigyelhető akkor, ha a sejtek a katalitikusan inaktív proteáz domént tartalmazó fehérjét termelték [10]. Ez arra utalt, hogy a fehérje hatásának közvetítésében fontos szerepe lehet a PEG10 proteáznak, azonban az enzimaktivitás fiziológias jelentősége a mai napig sem tisztázott. A PEG10 működésének jobb megértéséhez jelentősen hozzájárulhat a (cisz vagy transz) hasítóhelyek és celluláris szubsztrátok azonosítása is, de ezidáig még nem sikerült a proteáz egyetlen természetes vagy nem-specifikus szubsztrátját sem azonosítani kísérletes módon.

### **A PEG10 alkalmazása gén-transzfer rendszerben**

A PEG10-et terápiás jelentősége mellett gyakorlati alkalmazhatósága szempontjából is vizsgálják. A CRISPR (rövid, fordított ismétlődésekkel elhatárolt szekvenciák genomi régiója/CRISPR-kapcsolt nukleáz 9; *clustered regularly interspaced short palindromic repeats/CRISPR-associated nuclease 9*) genomszerkesztési rendszer úttörőjének számító Feng Zhang kutatócsoportja végzett olyan kutatásokat, melyek célja a PEG10 által kialakított VLP-k gén-transzfer rendszerben történő alkalmazása volt [8]. Kutatásaik alapjául az Arc fehérje szerkezetének és működésének megismerése szolgált, mely feltárta a retrovírus gag fehérjékkel való hasonlóságát, valamint az RNS kötésére és azok kapszid-szerű részecskék általi szállítására való képességét [25]. Segel és munkatársai feltételezték, hogy az Arc fehérjéhez hasonlóan más fehérjék is rendelkezhetnek ezekkel a tulajdonságokkal, majd egér és humán fehérjék átfogó vizsgálata alapján a PEG10-et választották kutatásaikhoz, ugyanis a vizsgált fehérjék közül ez volt képes a leghatékonyabban RNS-t kötni és VLP-eket kialakítani. Kimutatták, hogy NC-szerű doménje a saját mRNS-ében található nem-transzlálódó régiókat (UTR, *untranslated region*) ismeri fel és köti meg. Feltételezték továbbá, hogy ha a becsomagolandó mRNS-ek felismerésére használt PEG10-specifikus UTR szekvenciákat más RNS-ekhez kapcsolják, akkor az RNS-kötés irányítható lehet. A Feng Zhang kutatócsoportja által kidolgozott SEND (*Selective Endogenous Encapsidation for cellular Delivery*) rendszer [8] alapja, hogy a PEG10 képes bizonyos RNS-ek szelektív felismerésére és

csomagolására, majd az extracelluláris VLP-k általi szállítására. A szállítórendszer a PEG10 fehérje mellett egy ún. „fuzogén” fehérjét is tartalmaz, mely a VLP felszínén helyezkedik el és segíti a sejtekbe történő felvételt (4. ábra).



**4. ábra. A SEND rendszer működésének vázlatja és a vírus-szerű részecske felépítése.** Készült Riecken és mtsai [37], valamint Gutkin és mtsai [38] alapján.

A VLP-k előállítására szolgáló rendszer alkalmazásához három plazmid DNS-re van szükség, melyek transzfekcióval juttathatók azokba a sejtekbe, melyek majd előállítják az RNS molekulákat szállító VLP-eket. Az egyik plazmidról íródik át a szállítandó gén mRNS-e (ún. „cargo RNS”), mely tartalmazza a PEG10 által specifikusan felismert UTR szekvenciákat is. A másik plazmidról expresszálódik a PEG10 fehérje, ami a VLP kialakításához és a „cargo mRNS” megkötéséhez szükséges. A harmadik plazmid kódolja a burokfehérjének (*envelope*) megfelelő felszíni fehérjét (fuzogén), mely lehet a *vesicular stomatitis* vírus burokfehérjéje (VSVg), de egy teljesen endogén SEND rendszer létrehozása érdekében ez a virális fehérje akár pl. a retrovírus burokfehérje-eredetű endogén szincicin (*syncytin*) fehérjével is helyettesíthető lehet. A megfelelő fuzogén kiválasztása révén nem csak az immunogenitás csökkenthető, de lehetővé teszi a vezikulák sejt- vagy szövetspecifikus módon történő célba juttatását is. Az mRNS szállítására alkalmas részecskéket a transzfektált sejtek kibocsájtják, melyek a tápfolyadékból történő tisztítást követően felhasználhatóak lehetnek gén-

transzfer eljárásokban [8].

Az mRNS-ek célba juttatására lipid- vagy nanorészecske-alapú, továbbá *in vitro* elektroporációs eljárásokat is alkalmazhatnak, melyek limitáló tényezője lehet az alacsony hatékonyság vagy a sejtekre gyakorolt károsító hatás is. A SEND rendszer alkalmazása segíthet kiküszöbölni ezeket a hatásokat, többek között endogén fehérjék alkalmazása révén. A SEND a jelenleg alkalmazott géntranszfer rendszerek alternatívájaként is szolgálhat, azonban kihívást jelenthet a módszer jelenleg ismert korlátainak kiküszöbölése, beleértve magának a géntranszfernek vagy a csomagolás hatékonyságának a növelését, vagy a részecskék megfelelő mennyiségben történő hatékony előállítását [37, 38]. Fontos figyelembe venni továbbá, hogy a PEG10 túlzott expressziója önmagában is káros hatásokat válthat ki, ahogyan azt az ALS esetében is megfigyelték [22], ezért a jelenleg is folyó kutatások feladata lesz a SEND rendszer optimalizálása.

### **A paraneoplasztikus antigén Ma2 (PNMA2)**

A paraneoplasztikus neurológiai szindrómák ritka neuroimmun kórképek, melyekre jellemző az olyan autoantitestek megjelenése, melyek a betegség biomarkereként is használhatók. A PNMA gének, köztük a PNMA2, rák által kiváltott paraneoplasztikus szindrómákkal állnak kapcsolatban [39].

A Ty3 retrotranszpozon-eredetű PNMA2 is CA-szerű domént tartalmazó fehérje (1. ábra). A PNMA család más tagjaihoz - így a PNMA3, 5 és 6A fehérjékhez hasonlóan [8] - a PNMA2-ről is kimutatták, hogy képes extracelluláris VLP-k kialakítására, azonban a PNMA2 esetében egy korábban a retrovírus-szerű fehérjék esetében nem leírt jelenséget tártak fel a vizsgálatok. Az izolált PNMA2 részecske-frakció proteináz K enzimmel való kezelése esetén a fehérje degradációját figyelték meg, ezzel szemben az Arc fehérje által kialakított VLP-k a proteináz K kezeléssel szemben ellenállónak bizonyultak. Ez a megfigyelés arra utalt, hogy a sejtek által kibocsájtott vírus-szerű PNMA2 kapszidok nem membrán-határolt formában jutnak ki a sejtekből, amit elektronmikroszkópos vizsgálatok eredményei is alátámasztottak [29]. Kimutatták továbbá, hogy a paraneoplasztikus szindrómában nagy mennyiségben termelődnek olyan PNMA2 elleni antitestek, melyek a részecskék felszínén lévő felszíni „tüske”-szerű kapszidot ismerik fel. Érdekes, hogy a módosított, oligomerizációra és vírus-szerű kapszid-struktúra kialakítására nem képes fehérjeformák nem voltak képesek hasonló módon heves autoimmun reakciót kiváltani, igazolva a szerkezetileg intakt gag-szerű fehérje immunogenitását [29].

A PEG10 esetében végzett kutatások igazolták a fehérje lehetséges felhasználását SEND-alapú génterápiás eljárásokban, melynek egyik előnyös tulajdonsága az endogén CA-szerű fehérjék potenciálisan alacsonyabb immunogenitása [8, 37]. Azonban a PNMA2 által kiváltott autoimmunreakció felhívta a figyelmet arra, hogy egyes retrovírus-szerű fehérjék ilyen jellegű alkalmazása korlátokba ütközhet. Jelenleg nem áll rendelkezésre információ arra vonatkozóan, hogy a PNMA fehérje család más tagjai által kialakított kapszidok membránnal határoltak-e. Összehasonlító vizsgálatok sem tárták fel eddig azokat a különbségeket, melyek meghatározzák, hogy mely retrovírus-szerű fehérjék és miért lehetnek képesek membrán-burkolt (pl. Arc) vagy membránnal nem körülhatárolt (pl. PNMA2) részecskék kialakítására. Ezeknek a kérdéseknek a megválaszolásában az összehasonlító elemzések révén feltárt szerkezeti információk is segítségünkre lehetnek, és hozzájárulhatnak kevésbé immunogén kapszidok tervezéséhez.

### **A retrovírus-szerű aszpartil proteáz 1 (ASPRV1)**

Az ASPRV1 fehérjét bőr-specifikus (retrovírus-szerű) aszpartil proteáznak is nevezik (SASPáz), mivel elsőként a bőrben azonosították [20]. Az ASPRV1 a *stratum corneum*-ban és *granulosum*-ban expresszálódik nagy mennyiségben, fontos része a bőrben működő proteolitikus kaszkádnak, aktivitása révén hozzájárul a bőr nedvesség-tartalmát szabályozó folyamatokhoz [40].

Az ASPRV1 egy 37 kDa méretű prekursor fehérjeként expresszálódik (SASP37), mely tartalmazza a 14 kDa molekulatömegű proteáz domént is (SASP14). A SASP14 a teljes hosszúságú SASP37 fehérje autoproteolízise révén szabadul fel a prekursorból, az önhasítás révén először egy rövidebb, 28 kDa méretű fehérjeforma keletkezik (SASP28), ebből hasítja ki magát a PR. Ez a mechanizmus azonos azzal, ahogyan a retrovírusok PR-a kihalásítja magát a virális poliproteinből. Ugyan az ASPRV1 nevet használják elterjedten a fehérje azonosítására, ennek ellenére mégis a SASPáz név alapján történik a teljes hosszúságú prekursor (SASP37) és a belőle kihaló fehérjék (SASP28 és SASP14) megkülönböztetése. Az ASPRV1 név esetében nem terjedt el a molekulatömeg-alapú nevezéktan alkalmazása, pedig ezt az is indokolná, hogy számos vizsgálat igazolta, hogy a funkcionális ASPRV1 fehérje nem kizárólagosan a bőrben expresszálódik [41].

Az ASPRV1 is tartalmaz a retrovirális CA fehérje N-terminális doménjével

homológ, ún. kapszid-szerű régiót, azonban a C-terminális doménnek megfelelő szakasz hiányzik belőle (1. ábra). Ez lehet az egyik oka annak, hogy - a PEG10, a PEG11, az Arc/Arg3.1 és egyes PNMA fehérjékkel ellentétben - nem képes extracelluláris VLP-k kialakítására [8]. A CA-szerű domén funkcionális jelentőségére vonatkozóan ezidáig egyetlen kutatás szolgáltatott információkat, melyek alapján ez a domén fontos szerepet tölt be az ASPRV1 működését szabályozó fehérje-fehérje kölcsönhatás kialakításában [42]. Jelenlegi ismereteink alapján a proteáz domén tölt be meghatározó szerepet az ASPRV1 működésében, számos vizsgálat igazolta ezen domén szerkezeti és funkcionális jelentőségét [11, 20, 41, 42].

Az ASPRV1 azonosítása óta eltelt közel 20 év alatt is mindösszesen egyetlen természetes szubsztrátját azonosították. Ez a fehérje a bőrben található filaggrin, melynek előalakját, a profilaggrint az ASPRV1 proteolitikusan hasítja, ez a hasítás az előfeltétele a hidratációért felelős faktor előállításának [20]. A bőr barrier emlős-specifikus jellegére utal, hogy az ASPRV1 és a profilaggrin is kizárólag az emlősök többrétegű epitéliumában termelődik, ezért hozzájárulásuk az emlősök többrétegű hámrétegének kialakításához evolúciós szempontból igen jelentősnek tekinthető [2, 43]. Az elmúlt években a fehérje működésének jelentőségét további sejttípusokban is igazolták, ami indokolhatja az ASPRV1 név használatát a „bőr-specifikus” elnevezés (SASPáz) helyett. Neutrofilek esetében mutatták ki, hogy ezek a sejtek specifikusan expresszálják az ASPRV1-et, mely expresszió fokozódik a *sclerosis multiplex* gyulladós demielinizációs betegség modelljeként használt kísérletes autoimmun *encephalomyelitis* (EAE) esetén, a neutrofilek központi idegrendszerbe történő beszűrődése során [41]. Emiatt az ASPRV1-et jelenleg mint bizonyos gyulladós betegségek neutrofil-specifikus biomarkerét és terápiás célpontját tartják számon. Pontos szerepe még nem ismert, de feltételezhető, hogy az ASPRV1 enzimaktivitásának fontos szerepe lehet ebben a sejttípusban is, eddig ismeretlen szubsztrátok proteolitikus processzálása révén. Újabb szubsztrátok azonosítása segíthet majd jobban megérteni a proteáz specificitását és a fehérje fiziológiás jelentőségét is. Az azonosítást megnehezítheti, hogy a HIV PR-hoz hasonlóan az ASPRV1 PR esetében sem definiálható könnyen a hasítási specificitás, mert az nem kötött konszenzus szekvenciákhoz.

Annak ellenére, hogy ezidáig számos, az ASPRV1 PR doménjét érintő mutációt azonosítottak, az enzimaktivitás megváltozásának patobiokémiai jelentőségét

eddig csak az örökletes halbőr-betegség (*ichthyosis*) esetében igazolták. Olyan mutációkat azonosítottak a PR-ban, melyek az enzimatikus domén inaktiválódását okozva a természetes szubsztrát (filaggrin) felhalmozódásához vezetnek, ami a bőr elszarusodásának zavarát okozza [44]. Számos vizsgálat igazolta eddig, hogy az ASPRV1 expressziója jelentősen megváltozik (jellemzően fokozódik) bizonyos körülmények hatására (pl. betegségek, kezelések), azonban nem ismert, hogy az ASPRV1 fehérje mennyiségének megváltozása milyen hatással lehet a sejtek működésére és ehhez a hatáshoz milyen formában járul hozzá a potenciálisan megváltozó proteolitikus aktivitás.

### **Retrovírus-szerű fehérjék lehetséges gátlószerei**

Több retrovírus-szerű fehérjére (pl. ASPRV1, PEG10) már napjainkban is potenciális gyógyszer-célpontként tekintenek, amit bizonyos betegségekben betöltött szerepük indokol. Az eddigi kutatások ezidáig jellemzően a retrovírus-szerű PR-t potenciálisan gátolni képes, túlnyomó többségében terápiás használatra már engedélyezett molekulák vizsgálatát célozták. A HIV-1 PR elleni inhibitorok vizsgálatának alapját az a feltételezés képezte, hogy a HIV-1 PR-t gátolni képes molekulák hatékonyan gátolhatják a szerkezetileg homológ retrovírus-szerű enzimeket is, így a Ty1 retrotranszpozon [12], az ASPRV1 [11], a PEG10 [10] és a Ddi proteázokat egyaránt [45].

Kutatócsoportunk eredményei alapján a humán ASPRV1 proteázt csak az indinavir képes gátolni [11], míg a humán PEG10 proteáz aktivitására egyik vizsgált HIV-1 proteáz-gátló sem volt hatással [10]. A humán Ddi2 proteázt a nelfinavir képes hatékonyan gátolni [45]. Az általános aszpartil proteáz inhibitor acetil-pepszatin képes a Ty1 retrotranszpozon proteáz és az ASPRV1 gátlására is, aminek azonban nem a terápiás alkalmazás, hanem elsősorban *in vitro* aktivitásvizsgálatok szempontjából lehet jelentősége.

Bár egyes inhibitorok esetében a PR-t gátló hatást *in vitro* vizsgálatok igazolták, további mérések szükségesek annak megállapítására, hogy ezen anyagok alkalmasak lehetnek-e terápiásan releváns koncentrációban a megfelelő hatást kifejteni a celluláris enzimekkel szemben. Az ezirányú kutatásokat segítheti, hogy a HIV-1 PR inhibitorok többségét hosszú évek óta alkalmazzák a terápiás gyakorlatban, így lehetséges hatásaik és mellékhatásaik jelentős része már ismert.

A hatékony gátlási stratégiák kidolgozását segítheti a retrovírus és retrovírus-szerű proteázok összehasonlító vizsgálata is [46], mely révén meghatározható annak a molekuláris háttere, hogy az eukarióta szervezetek retrovírus-szerű proteázai miért rendelkeznek természetes rezisztenciával a legtöbb antiretrovirális terápiában alkalmazott HIV-1 PR inhibitorral szemben és miért érzékenyek más-más inhibitorral szemben. Ez irányú vizsgálatokat kutatócsoportunk is végzett. A HIV-1 és ASPRV1 PR szekvenciájának összehasonlításával megállapítottuk, hogy az ASPRV1 több olyan aminosavat is tartalmaz, melyek szerkezetileg ekvivalens pozícióban a HIV-1 PR esetében rezisztencia kialakulásához járulhatnak hozzá [11]. Ugyan a HIV-1 PR inhibitorokkal szembeni rezisztencia részben magyarázható lehet a szekvencia ilyen jellegű sajátágaival, azonban fontos figyelembe venni az elsődleges szerkezet sajátosságai mellett a negyedleges szerkezet egyedi jellemzőit is. Például a retrovírus-szerű proteázok a felszín felé jóval nyitottabb aktív hellyel rendelkeznek [17], mely alapvetően eltérő enzim-inhibitor kölcsönhatások kialakítását teszi lehetővé, mint a retrovírus proteázok esetében.

A retrovírus-szerű proteázok gátlhatóságának vizsgálatára irányuló kutatások középpontjában eddig jellemzően a klinikai felhasználásra már engedélyezett HIV-1 PR inhibitorok álltak, azonban a célzott és hatékony gátlás elérésében az új, specifikus gátlószerek fejlesztése hozhat áttörést. Ismereteink alapján a PEG10 PR az egyetlen retrovírus-szerű proteáz, mely esetében aktív kutatások zajlanak potenciális gátlószerek azonosítására, melyek szabadalmaztatási eljárása jelenleg folyamatban van [22]. A retrovírus-szerű proteázok nagyfokú szerkezeti hasonlóságot mutatnak, így lehetséges, hogy ezen inhibitorok többüket is potenciálisan gátlani lehetnek képesek (pl. PEG10, ASPRV1 és Ddi proteázok). A PEG10 inhibitorok elérhetővé válása után szükséges lehet gátlási profiljuk meghatározása és annak feltérképezése, hogy mely homológ enzimek lehetnek még érzékenyek a gátlásra.

Napjainkig nem ismertek olyan molekulák, melyek a gag-szerű doméneket célozva lennének képesek a retrovírus-szerű fehérjék működését befolyásolni. Napjainkban egyetlen olyan gátlószert elérhető, melynek molekuláris célpontja egy szerkezeti gag fehérje. A közelmúltban engedélyezték a lenacapavirt mint az első HIV-1 CA inhibitor, mely a HIV-1 életciklusának több lépésére is hatva képes a vírus replikáció gátlására [47]. Az egyik ilyen lépés a kapszid oligomerizációja. A lenacapavir képes fokozni a kapszid oligomer struktúra kialakulását, a kapszid monomerek közti kölcsönhatások erősítése révén pedig

egyúttal csökkenteni az oligomer szétesésének sebességét is. A kapszid domének közti szerkezeti homológia alapján [13] feltételezhető, hogy a HIV-1 kapszid inhibitor hatással lehet a humán retrovírus-szerű fehérjék működésére is.

### **HIV proteáz inhibitorok és a SARS-CoV-2**

A HIV PR inhibitorok molekuláris célpontjai lehetnek más, a HIV-1 PR-hoz hasonló aszpartil proteázok is, beleértve más retrovírusok vagy emlősök retrovírus-szerű proteázait is. Érdeemes megemlíteni azonban, hogy ezeknek a gátlószereknek fontos szerep jutott a súlyos akut légzőszervi szindróma-koronavírus 2 (SARS-CoV-2) esetében is.

A SARS-CoV-2 által okozott világméretű járvány kirobbanását követő időszakban nem álltak rendelkezésre olyan koronavírus-specifikus gyógyszerek, melyeket a koronavírus fertőzöttek kezelésében lehetett volna hatékonyan alkalmazni. A lehetséges terápiás szerek azonosításának az egyik stratégiája a már engedélyezett gyógyszerek „újrahasznosítása” volt (*drug repurposing*), hiszen az ilyen típusú gyógyszerek „bevetése” esetén nem lett volna szükség az új gyógyszer-molekulák kifejlesztése, vizsgálata és engedélyeztetése által jelentett, meglehetősen sokáig tartó folyamatokra [48]. A HIV fertőzöttek kezelésére már engedélyezett proteáz inhibitorokra is olyan molekulákként tekintettek, melyek képesek lehetnek a koronavírus fő proteázának (Mpro) gátlására annak ellenére, hogy ezek alapvetően eltérő szerkezetű és katalitikus mechanizmusú enzimek. Míg a HIV-1 PR az aszpartil, addig a SARS-CoV-2 Mpro a cisztein proteázok családjába tartozik és bár mindkét enzim homodimerként működik, aktív helyük felépítése és specificitásuk jelentős mértékben különbözik. Érdekes módon több számítógépes szerkezeti elemzés eredménye is arra utalt, hogy a HIV-1 PR inhibitorok hatékonyan lehetnek képesek kötődni a koronavírus kimotripszin-szerű fő proteázához, azonban az eredmények ellentmondásosak voltak és az egyes vizsgálatok más-más inhibitort azonosítottak potenciálisan hatékony gátlószerként. Kísérletes vizsgálatok, köztük kutatócsoportunk kutatásai is igazolták, hogy valójában egyik HIV-1 PR inhibitor sem képes terápiásan releváns koncentrációban a SARS-CoV-2 Mpro gátlására [49]. Ennek ellenére azonban a HIV-1 PR inhibitorok közül a ritonavir mégis alkalmazhatónak bizonyult a koronavírus fertőzöttek terápiájában. A 2022. év elején engedélyezték COVID-19 (koronavírus betegség-19) betegek kezelésére a Paxlovid nevű gyógyszert, melynek fő hatóanyaga a nirmatrelvir, ami a SARS-CoV-2 Mpro reverzibilis kovalens inhibitora. A Paxlovid a

nirmatrelvir mellett ritonavirt is tartalmaz, mely ugyan nem képes hatékonyan gátolni a SARS-CoV-2 Mpro-t, azonban a citokróm-rendszer gátlása révén képes növelni a nirmatrelvir stabilitását, ezáltal fokozva annak hatékonyságát.

A HIV PR inhibitorokat már régóta alkalmazzák HIV fertőzöttek kezelésében, azonban alkalmazásuk szempontjából az egyik legjelentősebb kihívást az ellenük kialakuló rezisztencia jelenti. Ennek oka az RNS vírusokra jellemző nagymértékű mutációs képesség. A celluláris retrovírus-szerű proteázok nagyobb mértékben konzerváltak, így esetükben az inhibitorokkal szembeni rezisztencia kialakulásának valószínűsége kismértékű. Ezzel szemben (és a HIV-1 PR-hoz hasonlóan) a SARS-CoV-2 RNS vírus is igen jelentős változékonyságot mutat, ezért az Mpro aktív helyét érintő mutációk potenciálisan a proteáz inhibitorokkal szembeni rezisztencia kialakulásához vezethetnek. A SARS-CoV-2 Mpro és a nirmatrelvir közti atomi kölcsönhatásokat, valamint az inhibitorral szembeni rezisztencia lehetséges kialakulásának hátterét kutatócsoportunk is vizsgálta. Eredményeinket egy összefoglaló közleményben mutattuk be [46], azok részletesebb tárgyalása azonban nem tárgya ezen publikációnak.

### **Köszönetnyilvánítás**

Köszönet a Retrovirális Biokémiai Kutató Laboratórium munkatársainak, akikkel az elmúlt években együtt dolgoztunk vagy jelenleg is dolgozunk, sok más fehérje mellett a retrovírus-szerű fehérjék vizsgálatán, külön köszönet illeti Dr. Golda Máriát és Nagyné Veres Ágotát. Köszönet Dr. Golda Máriának és Dr. Kristóf Endre Károlynak (Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet) a kéziratot érintő kritikai észrevételeikért. A TKP2021-EGA-20 számú projekt a Kulturális és Innovációs Minisztérium Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból nyújtott támogatásával, a TKP2021-EGA pályázati program finanszírozásában valósult meg. A kutatómunka a Magyar Tudományos Akadémia Bolyai János Kutatási Ösztöndíj (BO/00110/23/5) támogatásával jött létre. A Kulturális és Innovációs Minisztérium ÚNKP-23-5-DE-486 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból finanszírozott szakmai támogatásával készült. A projekt részben az MTA post-COVID jelenségek kutatására irányuló nagy kockázatú pályázatok támogatásával valósult meg (POST-COVID<sub>2021-16</sub>).

### **Irodalomjegyzék**

- [1] Coffin, J.M., Hughes, S.H., Varmus, H.E. (Eds.). (1997) *Retroviruses*. Cold Spring Harbor Laboratory Press.

- [2] Kaneko-Ishino, T., Ishino, F. (2012) The role of genes domesticated from LTR retrotransposons and retroviruses in mammals. *Frontiers in microbiology*, **3**: 262.
- [3] Kaneko-Ishino, T., Ishino, F. (2023) Retrovirus-Derived RTL/SIRH: Their Diverse Roles in the Current Eutherian Developmental System and Contribution to Eutherian Evolution. *Biomolecules*, **13(10)**: 1436.
- [4] Mi, S., Lee, X., Li, X., Veldman, G.M., Finnerty, H., Racie, L., LaVallie, E., Tang, X.Y., Edouard, P., Howes, S., Keith, J.C.Jr., McCoy, J.M. (2000) Syncytin is a captive retroviral envelope protein involved in human placental morphogenesis. *Nature*, **403(6771)**: 785-9.
- [5] Naville, M., Warren, I.A., Haftek-Terreau, Z., Chalopin, D., Brunet, F., Levin, P., Galiana, D., Volff, J.N. (2016) Not so bad after all: retroviruses and long terminal repeat retrotransposons as a source of new genes in vertebrates. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, **22(4)**: 312–323.
- [6] Feschotte, C., Gilbert, C. (2021) Endogenous viruses: insights into viral evolution and impact on host biology. *Nature Reviews Genetics*, **13**: 283–296.
- [7] Campillos, M., Doerks, T., Shah, P.K., Bork, P. (2006). Computational characterization of multiple Gag-like human proteins. *Trends in genetics*, **22(11)**: 585–589.
- [8] Segel, M., Lash, B., Song, J., Ladha, A., Liu, C.C., Jin, X., Mekhedov, S.L., Macrae, R.K., Koonin, E.V., Zhang, F. (2021) Mammalian retrovirus-like protein PEG10 packages its own mRNA and can be pseudotyped for mRNA delivery. *Science*, **373(6557)**: 882–889.
- [9] Yip, M.C.J., Bodnar, N.O., Rapoport, T.A. (2020) Ddi1 is a ubiquitin-dependent protease. *Proceedings of the National Academy of Sciences U S A*, **117(14)**: 7776–7781.
- [10] Golda, M., Mótyán, J.A., Mahdi, M., Tózsér, J. (2020) Functional Study of the Retrotransposon-Derived Human PEG10 Protease. *International journal of molecular sciences*, **21(7)**: 2424.
- [11] Golda, M., Mótyán, J.A., Nagy, K., Matúz, K., Nagy, T., Tózsér, J. (2020) Biochemical Characterization of Human Retroviral-Like Aspartic Protease 1 (ASPRV1). *Biomolecules*, **10(7)**: 1004.
- [12] Gazda, L.D., Joóné Matúz, K., Nagy, T., Mótyán, J.A., Tózsér, J. (2020). Biochemical characterization of Ty1 retrotransposon protease. *PloS one*, **15(1)**: e0227062.
- [13] Zurowska, K., Alam, A., Ganser-Pornillos, B.K., Pornillos, O. (2022)

- Structural evidence that MOAP1 and PEG10 are derived from retrovirus/retrotransposon Gag proteins. *Proteins*, **90(1)**: 309–313.
- [14] Hallin, E.I., Bramham, C.R., Kursula, P. (2021) Structural properties and peptide ligand binding of the capsid homology domains of human Arc. *Biochemistry and biophysics reports*, **26**: 100975.
- [15] Eriksen, M.S., Nikolaienko, O., Hallin, E.I., Grødem, S., Bustad, H.J., Flydal, M.I., Merski, I., Hosokawa, T., Lascu, D., Akerkar, S., Cuéllar, J., Chambers, J.J., O'Connell, R., Muruganandam, G., Loris, R., Touma, C., Kanhema, T., Hayashi, Y., Stratton, M.M., Valpuesta, J. M., ... Bramham, C.R. (2021) Arc self-association and formation of virus-like capsids are mediated by an N-terminal helical coil motif. *The FEBS journal*, **288(9)**: 2930–2955.
- [16] Markússon, S., Hallin, E.I., Bustad, H.J., Raasakka, A., Xu, J., Muruganandam, G., Loris, R., Martinez, A., Bramham, C.R., Kursula, P. (2022) High-affinity anti-Arc nanobodies provide tools for structural and functional studies. *PLoS one*, **17(6)**: e0269281.
- [17] Sivá, M., Svoboda, M., Veverka, V., Trempe, J.F., Hofmann, K., Kožíšek, M., Hexnerová, R., Sedlák, F., Belza, J., Brynda, J., Šácha, P., Hubálek, M., Starková, J., Flaisigová, I., Konvalinka, J., Šašková, K. G. (2016) Human DNA-Damage-Inducible 2 Protein Is Structurally and Functionally Distinct from Its Yeast Ortholog. *Scientific reports*, **6**: 30443.
- [18] Dodonova, S.O., Prinz, S., Bilanchone, V., Sandmeyer, S., Briggs, J. A.G. (2019) Structure of the Ty3/Gypsy retrotransposon capsid and the evolution of retroviruses. *Proceedings of the National Academy of Sciences U S A*. **116(20)**: 10048–10057.
- [19] Mótyán, J.A., Miczi, M., Tózsér, J. (2020) Dimer Interface Organization is a Main Determinant of Intermonomeric Interactions and Correlates with Evolutionary Relationships of Retroviral and Retroviral-Like Ddi1 and Ddi2 Proteases. *International journal of molecular sciences*, **21(4)**: 1352.
- [20] Bernard, D., Méhul, B., Thomas-Collignon, A., Delattre, C., Donovan, M., Schmidt, R. (2005) Identification and characterization of a novel retroviral-like aspartic protease specifically expressed in human epidermis. *The Journal of investigative dermatology*, **125(2)**: 278–287.
- [21] Trempe, J.F., Šašková, K.G., Sivá, M., Ratcliffe, C.D., Veverka, V., Hoegl, A., Ménade, M., Feng, X., Shenker, S., Svoboda, M., Kožíšek, M., Konvalinka, J., Gehring, K. (2016) Structural studies of the yeast DNA damage-inducible protein Ddi1 reveal domain architecture of this eukaryotic protein family. *Scientific reports*, **6**: 33671.
- [22] Black, H.H., Hanson, J.L., Roberts, J.E., Leslie, S.N., Campodonico, W.,

- Ebmeier, C.C., Holling, G.A., Tay, J.W., Matthews, A.M., Ung, E., Lau, C.I., Whiteley, A.M. (2023) UBQLN2 restrains the domesticated retrotransposon PEG10 to maintain neuronal health in ALS. *eLife*, **12**: e79452.
- [23] Bell, N.M., Lever, A.M. (2013) HIV Gag polyprotein: processing and early viral particle assembly. *Trends in microbiology*, **21(3)**: 136–144.
- [24] Gamble, T.R., Yoo, S., Vajdos, F.F., von Schwedler, U.K., Worthylake, D.K., Wang, H., McCutcheon, J.P., Sundquist, W.I., Hill, C.P. (1997). Structure of the carboxyl-terminal dimerization domain of the HIV-1 capsid protein. *Science*, **278(5339)**: 849–853.
- [25] Pastuzyn, E.D., Day, C.E., Kearns, R.B., Kyrke-Smith, M., Taibi, A.V., McCormick, J., Yoder, N., Belnap, D.M., Erlendsson, S., Morado, D.R., Briggs, J.A.G., Feschotte, C., Shepherd, J. D. (2018) The Neuronal Gene Arc Encodes a Repurposed Retrotransposon Gag Protein that Mediates Intercellular RNA Transfer. *Cell*, **172(1-2)**: 275–288.e18.
- [26] Eriksen, M.S., Bramham, C.R. (2022). Molecular physiology of Arc/Arg3.1: The oligomeric state hypothesis of synaptic plasticity. *Acta physiologica (Oxford, England)*, **236(3)**: e13886.
- [27] Curcio, M.J., Lutz, S., Lesage, P. (2015) The Ty1 LTR-retrotransposon of budding yeast, *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiology spectrum*, **3(2)**: 1–35.
- [28] Myrum, C., Baumann, A., Bustad, H.J., Flydal, M.I., Mariaule, V., Alvira, S., Cuéllar, J., Haavik, J., Soulé, J., Valpuesta, J.M., Márquez, J.A., Martinez, A., Bramham, C.R. (2015) Arc is a flexible modular protein capable of reversible self-oligomerization. *The Biochemical journal*, **468(1)**: 145–158.
- [29] Xu, J., Erlendsson, S., Singh, M., Regier, M., Ibiricu, I., Day, G.S., Piquet, A.L., Clardy, S.L., Feschotte, C., Briggs, J.A.G., Shepherd, J.D. (2023) PNMA2 forms non-enveloped virus-like capsids that trigger paraneoplastic neurological syndrome. *bioRxiv: the preprint server for biology*, **2023 Feb 9**:2023.02.09.527862.
- [30] Ishino, F., Itoh, J., Irie, M., Matsuzawa, A., Naruse, M., Suzuki, T., Hiraoka, Y., Kaneko-Ishino, T. (2023) Retrovirus-Derived RTL9 Plays an Important Role in Innate Antifungal Immunity in the Eutherian Brain. *International Journal of Molecular Sciences*, **24(19)**: 14884.
- [31] Clark, M.B., Jänicke, M., Gottesbühren, U., Kleffmann, T., Legge, M., Poole, E.S., Tate, W.P. (2007) Mammalian gene PEG10 expresses two reading frames by high efficiency -1 frameshifting in embryonic-associated tissues. *Journal of biological chemistry*, **282(52)**: 37359-69.

- [32] Katuwal, N.B., Kang, M.S., Ghosh, M., Hong, S.D., Jeong, Y.G., Park, S.M., Kim, S.G., Sohn, J., Kim, T.H., Moon, Y.W. (2023) Targeting PEG10 as a novel therapeutic approach to overcome CDK4/6 inhibitor resistance in breast cancer. *Journal of experimental & clinical cancer research: CR*, **42(1)**: 325.
- [33] Shiura, H., Ono, R., Tachibana, S., Kohda, T., Kaneko-Ishino, T., Ishino, F. (2021) PEG10 viral aspartic protease domain is essential for the maintenance of fetal capillary structure in the mouse placenta. *Development*, **148(19)**: dev199564.
- [34] Shiura, H., Kitazawa, M., Ishino, F., Kaneko-Ishino, T. (2023) Roles of retrovirus-derived *PEG10* and *PEG11/RTL1* in mammalian development and evolution and their involvement in human disease. *Frontiers in cell and developmental biology*, **11**: 1273638.
- [35] Xie, T., Pan, S., Zheng, H., Luo, Z., Tembo, K.M., Jamal, M., Yu, Z., Yu, Y., Xia, J., Yin, Q., Wang, M., Yuan, W., Zhang, Q., Xiong, J. (2018) PEG10 as an oncogene: expression regulatory mechanisms and role in tumor progression. *Cancer cell international*, **18**: 112.
- [36] Pandya, N.J., Wang, C., Costa, V., Lopatta, P., Meier, S., Zampeta, F. I., Punt, A.M., Mientjes, E., Grossen, P., Distler, T., Tzouros, M., Martí, Y., Banfai, B., Patsch, C., Rasmussen, S., Hoener, M., Berrera, M., Kremer, T., Dunkley, T., Ebeling, M., Jagasia, R. (2021) Secreted retrovirus-like GAG-domain-containing protein PEG10 is regulated by UBE3A and is involved in Angelman syndrome pathophysiology. *Cell reports. Medicine*, **2(8)**: 100360.
- [37] Riecken, K., Głów, D., Fehse, B. (2021) How to package and SEND mRNA: a novel "humanized" vector system based on endogenous retroviruses. *Signal transduction and targeted therapy*, **6(1)**: 384.
- [38] Gutkin, A., Rosenblum, D., Peer, D. (2021) RNA delivery with a human virus-like particle. *Nature biotechnology*, **39**: 1514–1515.
- [39] Pang, S.W., Lahiri, C., Poh, C.L., Tan, K.O. (2018) PNMA family: Protein interaction network and cell signalling pathways implicated in cancer and apoptosis. *Cellular signalling*, **45**: 54–62.
- [40] Peled, A., Sprecher, E. (2023) Proteolytic and Antiproteolytic Activity in the Skin: Gluing the Pieces Together. *Journal of Investigative Dermatology*, **2023 Oct 20**: S0022-202X(23)02564-2.
- [41] Whittaker Hawkins, R.F., Patenaude, A., Dumas, A., Jain, R., Tesfagiorgis, Y., Kerfoot, S., Matsui, T., Gunzer, M., Poubelle, P.E., Larochelle, C., Pelletier, M., Vallières, L. (2017) ICAM1+ neutrophils promote chronic inflammation

- via ASPRV1 in B cell-dependent autoimmune encephalomyelitis. *JCI insight*, **2(23)**: e96882.
- [42] Donovan, M., Salamito, M., Thomas-Collignon, A., Simonetti, L., Desbouis, S., Rain, J. C., Formstecher, E., Bernard, D. (2020) Filaggrin and filaggrin 2 processing are linked together through skin aspartic acid protease activation. *PloS one*, **15(5)**: e0232679.
- [43] Matsui T. (2023) Epidermal Barrier Development via Corneoptosis: A Unique Form of Cell Death in Stratum Granulosum Cells. *Journal of developmental biology*, **11(4)**: 43.
- [44] Boyden, L.M., Zhou, J., Hu, R., Zaki, T., Loring, E., Scott, J., Traupe, H., Paller, A.S., Lifton, R.P., Choate, K. A. (2020) Mutations in ASPRV1 Cause Dominantly Inherited Ichthyosis. *American journal of human genetics*, **107(1)**: 158–163.
- [45] Gu, Y., Wang, X., Wang, Y., Wang, Y., Li, J., Yu, F.X. (2020) Nelfinavir inhibits human DDI2 and potentiates cytotoxicity of proteasome inhibitors. *Cellular signalling*, **75**: 109775.
- [46] Mótyán, J.A., Mahdi, M., Hoffka, G., Tózsér, J. (2022) Potential Resistance of SARS-CoV-2 Main Protease (Mpro) against Protease Inhibitors: Lessons Learned from HIV-1 Protease. *International journal of molecular sciences*, **23(7)**: 3507.
- [47] Dvory-Sobol, H., Shaik, N., Callebaut, C., Rhee, M.S. (2022) Lenacapavir: a first-in-class HIV-1 capsid inhibitor. *Current opinion in HIV and AIDS*, **17(1)**: 15–21.
- [48] Raghav, P.K., Mann, Z., Ahluwalia, S.K., Rajalingam, R. (2023) Potential treatments of COVID-19: Drug repurposing and therapeutic interventions. *Journal of pharmacological sciences*, **152(1)**: 1–21.
- [49] Mahdi, M., Mótyán, J.A., Szojka, Z.I., Golda, M., Miczi, M., Tózsér, J. (2020). Analysis of the efficacy of HIV protease inhibitors against SARS-CoV-2's main protease. *Virology journal*, **17(1)**: 190.



**Mótyán János András** Balassagyarmaton született 1981-ben. A Debreceni Egyetem szerzett molekuláris biológus (biokémikus) diplomát 2006-ban, majd ezt követően 2011-ben PhD és 2022-ben habilitált doktori fokozatot elméleti orvostudományok szakterületen. Oktató munkáját az AOK Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézetében végzi egyetemi adjunktusként. Kutatásait a Tózsér József intézetvezető professzor által vezetett Retrovirális Biokémiai Kutató laboratóriumában folytatja. Fő érdeklődési területét a retrovirális és retrovírus-szerű fehérjék vizsgálata képezi, különös tekintettel a szerkezet-funkció összefüggések in vitro és in silico módszerekkel történő tanulmányozására. 2023-

ban elnyerte a Magyar Tudományos Akadémia Bolyai János Kutatási Ösztöndíját, a támogatott kutatások célja az összefoglaló közleményben is bemutatott retrovírus-szerű fehérjék vizsgálata.



**Tózsér József** 1983-ban szerzett okleveles vegyész diplomát a Debreceni Kossuth Lajos Tudományegyetemen, majd 1988-ban egyetemi doktori fokozatot a Debreceni Orvostudományi Egyetemen. 1989-1991 között ösztöndíjjal az Egyesült Államokban, az NCI-Frederick Cancer Research and Development Center Molekuláris Virologiai és Karcinogenezis Laboratóriumában dolgozott Dr. Stephen Oroszlan irányításával. 1994-ben a biológiai tudományok kandidátusa, 2002-ben az MTA doktora címet szerezte meg, 2002-ben habilitált a Debreceni Egyetemen. 2013-tól a Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet intézetigazgató egyetemi tanára. 1992 óta vezeti az általa alapított Retrovirális Biokémiai Kutató Laboratórium kutatócsoportot, fő kutatási területe a retrovírusok életciklusának

biokémiai és enzimológiai tanulmányozása (különös tekintettel a virális proteázok funkciójának és tulajdonságainak vizsgálatára) és retrovírus alapú génterápiás vektorok fejlesztése. A kutatócsoportról bővebben olvashatnak a kutatócsoport honlapján (<https://lrb.med.unideb.hu>) vagy a *Biokémia* folyóirat 2018. évi összevont szeptember+december lapszámában ([https://www.mbkegy.hu/apps/mbkegy/resources/biokem/2018/2018\\_12.pdf](https://www.mbkegy.hu/apps/mbkegy/resources/biokem/2018/2018_12.pdf)).

# ELEMÖSSZETÉTEL ÉS REDOX-HOMEOSZTÁZIS VIZSGÁLATA NÖVÉNYI, ÁLLATI ÉS HUMÁN SZERVEZETEK BEN

*Süle Krisztina*

*Magyar Tudományos Akadémia Természettudományi Kutatóközpont,  
Anyag- és Környezetkémiai Intézet  
Semmelweis Egyetem Gyógyszertudományok Doktori Iskola*

*Témavezető: Dr. Szentmihályi Klára  
Konzulens: Dr. Blázovics Anna*

## Összefoglalás

Kutatómunkámban a növényi, állati és humán szervezetekben megjelenő elemösszetételt, antioxidáns tulajdonságot, illetve a redox-homeosztázist vizsgáltam. A növényi eredetű mintákat kiterjedt analízisnek vettem alá az elemösszetétel, a hatóanyagtartalmuk, valamint az antioxidáns tulajdonságaik meghatározását tekintve. Megállapításra került, hogy a gyógynövény- és a gyümölcskészítmények egyaránt jó antioxidáns kapacitást mutatnak, azonban a készítmények szabadgyökfogó-képességére a szerves hatóanyagtartalom mellett azok elemösszetétele is hatással van, mert a nagymennyiségű Cu-tartalom negatívan befolyásolja a gyógynövény- és gyümölcskészítmények antioxidáns tulajdonságát. Összességében megállapítottam, hogy a növényi anyagok és kivonataik szerves hatóanyagtartalmának, antioxidáns tulajdonságának és elemösszetételének együttes vizsgálata fontos lenne a táplálkozási érték és a hatásosság megállapításakor. Patkánykísérletben zsírmájban a meggyliofilizátum kedvező hatását igazoltam. Az elzsírosodás következtében felborult redox-homeosztázist és a májsejtek károsodását a meggyliofilizátum-kezelés képes visszaszorítani, amelyet a redox-paraméterek mellett az elemösszetételben tapasztalt szignifikáns eltérések, valamint a hisztológiai eredmények is igazolnak. Megállapításra került, hogy a meggyliofilizátum jelentős mértékben befolyásolja az elemösszetételt és a redox-homeosztázist egészséges és zsírmájú egyedek különböző szöveteiben. Egy további állatkísérletben igazoltam, hogy a *Silybum marianum* magolaj és préselvény mikotoxinnal szennyezett tápba keverve pozitívan befolyásolja a kacsamáj elemösszetételét és redox-homeosztázisát, mert mérsékelte a mikotoxin-szennyezés által előidézett szöveti károsodást, amely megfigyeléseket a hisztológiai eredmények is alátámasztják. Humán vizsgálatban 3 évig tartó, szigorú orvosi kontroll mellett történő D<sub>3</sub>-vitamin-kezelés következtében kialakuló elemösszetételt és redox-homeosztázist analizáltam különböző

stádiumú prosztatatarakos betegekben. A plazmában és az eritrocitában végzett vizsgálatok alapján a D<sub>3</sub>-vitamin-kezelés hatására kedvező elemösszetétel és redox-homeosztázis igazolható. Az is megállapítást nyert azonban, hogy a hosszútávú D<sub>3</sub>-vitamin-kezelés elősegítheti a Fe és Pb nagyobb mértékű felhalmozódását az eritrocitában, amely megemelheti az eritrocitákat érő szabadgyökterhelést.

## Bevezetés

Az ásványi anyagok és a természetes eredetű bioaktív hatóanyagok jelentős szerepet játszanak az egészség megőrzésében immunstimuláns, gyulladáscsökkentő és antioxidáns hatásai miatt. A hazai lakosság helytelen táplálkozási szokásai betegségek kialakulását idézhetik elő, amely azonban megelőzhető az antioxidánsokban gazdag élelmiszerek kiegyensúlyozott fogyasztásával.

A szerves hatóanyagok mellett a fémekkel kapcsolatos vizsgálatoknak kiemelt jelentőségük van, mert kevés adat áll rendelkezésre, azok flavonoid vagy gyógyszer-flavonoid interakciókról. A gyógynövényekben lévő fenolszármazékok antioxidáns tulajdonságát nagymértékben befolyásolja a bennük jelenlévő fémkomponensek minősége és mennyisége.

Az ásványi anyagokat a mindennapi étkezés során az állati eredetű termékekkel is elfogyaszthatjuk. Ezáltal az emberi szervezet ki van téve olyan betegségeknek (mikotoxikózis), amelyeket az állati takarmányban megtalálható szennyeződések (mikotoxinok) okozhatnak. A védekezés szempontjából megoldást jelenthet a gyógynövény eredetű hatóanyagok takarmányokban történő alkalmazása a mikotoxinok oxidatív hatásának csökkentése érdekében.

A magyarországi lakosság jelentős része D-vitamin hiányos. A D-vitamin napi beviteli mennyiségének meghatározásával kapcsolatos ajánlások ellentmondásosak, túladagolása pedig egészségügyi kockázatokat eredményezhet. Továbbá, az irodalmi adatok hiányosak arra vonatkozóan, hogy a hosszútávú D<sub>3</sub>-vitamin-kezelés befolyásolhatja-e az elemösszetételt és ezzel összefüggésben a redox-homeosztázist. Emiatt a D<sub>3</sub>-vitamin orvosi kontroll mellett történő hosszútávú szedésének vizsgálata a jelen tanulmányban elemzett prosztatatarakos betegek esetén kiemelt jelentőségű.

A fémvegyületek humán szervezetben lezajló metabolikus folyamatainak kutatási eredményei egyre átfogóbb képet adnak a fémes és nem fémes komponensek, valamint azok szerves vegyületeinek élettani hatásairól, melyek jelentőséget nyernek az egészség megőrzésében és a betegségek leküzdésében,

immunstimuláns, gyulladáscsökkentő, antioxidáns és apoptózis-induktor hatásai miatt.

A táplálkozás szempontjából a növényi, állati és humán szervezetek szoros összefüggésben vannak egymással, mert az alacsonyabb szinten bekerülő ásványi elemek vagy szerves hatóanyagok a tápláléklánc magasabb szintjein is megmutatkoznak.

Az ember számára elengedhetetlen makro- és mikro-, fémes és nem fémes komponensek legfontosabb forrása a növényi és állati eredetű élelmiszerek. A fémkomponensek fehérjékhez történő kötődésük révén befolyásolják a sejtmembrán transzportfolyamatokat, ezáltal szerepet játszanak a membrán áteresztőképességének megváltoztatásában [1]. Továbbá, kiemelten fontosak az endogén antioxidáns enzimekben enzimek alkotóként betöltött szerepük miatt (réz-cink tartalmú szuperoxid dizmutáz (CuZnSOD), mangán tartalmú szuperoxid dizmutáz (MnSOD)), a transzkripció faktorok indukciójában és azok szabályozásában (aktivátor-protein 1 (AP-1) és az inhibitor kappa B-kináz (I- $\kappa$ B-kináz) is [2-4].

A talaj-, illetve a takarmányszennyezettség miatt azonban a táplálékláncon keresztül az emberi szervezet ki van téve az indirekt egészségkárosodásnak. A betegségek kialakulása esetén a szervezet antioxidáns védekező rendszere legyengül, amely a kívülről bevitt antioxidánsok és ásványi elemek pótlásával javítható. A szervezetben előforduló kis molekulatömegű antioxidáns vegyületek és az antioxidáns enzimek, valamint a táplálékkal bevitelű természetes bioaktív hatóanyagok (vitaminok, flavonoidok, polifenolok) feladata a szabad gyökök inaktiválása. Antioxidánsnak tekintjük azokat a vegyületeket, amelyek védelmet nyújtanak a reaktív oxigénvegyületek (ROS) oxidáló hatása ellen azáltal, hogy elektronátadással redukálják, ezzel semlegesítik azokat. A folyamat következtében visszaáll a nem toxikus, tehát redukált fiziológiás környezet.

Azonban, ha az antioxidánsok és vitaminok, valamint a nyomelemek túlzott mennyiségben kerülnek a szervezetbe, azok kedvezőtlenül alakítják a szervezet redox- és fémion-homeosztázisát [5, 6]. A nagy mennyiségű antioxidáns tulajdonságú hatóanyagok bevitelénél számolni kell az antioxidánsok kedvezőtlen hatásával is, amely idővel a kóros állapotok fokozódásához, illetve az immunrendszer gyengüléséhez vezet [7].

A természetes hatóanyagtartalmú étrendkiegészítőkben és gyógyhatású készítményekben a hivatalos szervek előírásai alapján, csupán egyes toxikus fémkomponensek koncentrációit adják meg, azonban szükség lenne más fémek jelenlétének meghatározására is a redox-, illetve a fém-homeosztázisban betöltött szerepük miatt. Ezért a fémekkel kapcsolatos vizsgálatoknak kiemelt jelentőségük van.

Kevés adat áll rendelkezésre a flavonoid-flavonoid szinergizmusról, antagonizmusról vagy a gyógyszer-flavonoid, illetve ásványi elem interakciókról. Bizonyították, hogy a gyógynövények és azok készítményeiben lévő polifenolok antioxidáns tulajdonságát nagymértékben befolyásolja a bennük jelenlévő fémkomponensek minősége és mennyisége.

A polifenolok fémkomplexei erősebb antioxidáns tulajdonságú vegyületek, mint a nem fémkomplex formában létező polifenolok. Kedvező befolyással vannak továbbá az ásványi elemek biohasznosulására, valamint megkötik a szabad gyökök képződését katalizáló szabad fémionokat [8]. A gyógynövények és gyümölcsök beltartalmi értékei nemcsak a fajok között különböznek, hanem különböző fajták esetén is eltérhetnek mennyiségükben és minőségükben, melyet a termesztésük során felmerülő környezeti tényezők és a földrajzi elhelyezkedés jelentős mértékben befolyásol.

A növényekben és a növényi alapú étrendkiegészítőkben megtalálható bioaktív anyagok molekuláris biológiai hatásáról és adjuváns terápiás szerként történő alkalmazásáról kevés olyan orvosi publikáció létezik, melynek alapján érdemi értékelés elvárható lenne. A gyógyszer- és az orvostudomány nem tudja elegendő információval ellátni a betegeket a gyógynövényalapú készítmények és étrendkiegészítők helyes alkalmazásának kérdésében, ezért a gyógynövények és étrendkiegészítők részletesebb analitikai és hatástani vizsgálata kiemelt jelentőséggel bír.

A hazai lakosság helytelen táplálkozási szokásai hozzájárulnak a népbetegségek számító elhízáshoz, cukorbetegséghez, hipertóniához, vagyis az anyagcsere-betegségekhez és a daganatok kialakulásához [9]. A betegségek kialakulásának kockázata megelőzhető, illetve jelentősen csökkenthető a természetes antioxidánsokban gazdag élelmiszerek és étrendkiegészítők kiegyensúlyozott fogyasztásával. A táplálkozási szempontból fontos antocián színyanyagot tartalmazó boglyós gyümölcsök fogyasztása ígéretes lehet a

gyulladásos folyamatok és a lipidperoxidáció gátlásának szempontjából, amely potenciális antioxidáns és lipidszintcsökkentő hatásuknak köszönhető.

Az ásványi anyagokat a mindennapi étkezés során az állati eredetű termékek fogyasztásával is bejuttathatjuk a szervezetbe. A mikotoxinok megemelkedett mennyisége nagy kihívást jelent az élelmiszeriparban, különös tekintettel a gabonafélékre, így pl. a búzára vagy a kukoricára, és nem utolsósorban az ezeket nagy mennyiségben tartalmazó állati takarmányokra. A növényi és állati eredetű élelmiszerek elfogyasztásával az emberi szervezet ki van téve a mikotoxikózisnak, mert a táplálékláncon keresztül a mikotoxinnal szennyezett takarmány által az állatok szervezetébe került mikotoxinokat az ember is elfogyasztja. A mikotoxinok a szervezetbe kerülve oxidatív stresszt indukálnak, emiatt nagymértékben negatívan befolyásolják az antioxidáns védelmi rendszert [10]. Megoldást jelenthet a gyógynövény eredetű hatóanyagok felhasználásának lehetősége a takarmányokban, mely az állati betegségek prevenciójában is jelentőséget nyer [11-13].

A D<sub>3</sub>-vitamin szerepe jelentősen felértékelődött a betegségek és különböző rákos folyamatok megelőzésében. Emellett számos elmélet és ajánlás változott meg az elmúlt évtizedben a D-vitamin beviteli mennyiségére vonatkozóan. A magyarországi lakosság körében végzett kutatási eredmények alapján megállapításra került, hogy a népesség jelentős része D-vitaminhiányban szenved, ezért 2012-ben a hazai konszenzus változtatott az ajánlott napi D-vitamin beviteli mennyiségen, 200 NE-ről 2000 NE-re emelte felnőttekre vonatkozóan [14]. Ennek következtében a lakosság egyre nagyobb arányban fogyasztja a nagyobb D-vitamintartalommal rendelkező készítményeket. A napi beviteli mennyiség meghatározásával kapcsolatos ajánlások ellentmondásosak, a vitamin túladagolása pedig egészségügyi kockázatokat von maga után. A D<sub>3</sub>-vitamin orvosi kontroll mellett történő hosszútávú szedésének, valamint a redox- és fémelem-homeosztázisra kifejtett hatásának tudományos vizsgálata a jelen tanulmányban elemzett prosztatatarákos betegek esetén kiemelt jelentőségű.

## **Módszerek**

### **Növényminták**

Kutatásaim során először a gyógynövény- és gyümölcskészítmények elemösszetételét, valamint antioxidáns tulajdonságait határoztam meg. Vizsgálataimhoz a cickafark (*Achillea millefolium* L.) herba, a csalán- (*Urtica*

dioica L.) levél, a galagonya (*Crataegus monogyna* Jacq.) virágos ágvég, a kisvirágú füzike- (*Epilobium parviflorum* Shreb.) virág, a körömvirág- (*Calendula officinalis* L.) szirm, a fehér fagyöngy- (*Viscum album* L.) bogyó és levél, a csipkebogyó (*Rosa canina* L.), a hársfa (*Tilia cordata* Mill.) virágzat drogjait és 70%-os etil-alkoholos kivonatait (2,5 g/25 ml) használtam fel. A minták a Bioextra Zrt. termékei voltak. A távol-keleti gyógynövények közül Kína különböző területeiről hazánkba került csüdfű- (*Astragalus membranaceus* Schischkin) gyökér, ginzeng- (*Panax ginseng* L.) gyökér és a kurkuma- (*Curcuma longa* L.) gyökér szárított gyógynövény őrleményét, a kínai hernyógomba (*Cordyceps sinensis* Berk.), a pecsétviaszgomba (*Ganoderma lucidum* Fr. Karst) spóra, a páfrányfenyő- (*Ginkgo biloba* L.) levél, és a máriatövis- (*Silybum marianum* L. Gaertn) termés porkészítményeit, valamint a belőlük készült étrendkiegészítőket és 70%-os etil-alkoholos kivonatait vizsgáltam (2,5 g/25 ml). A minták a Chen Patikától származtak.

A vizsgálatokhoz különböző gyümölcsökből készült sűrítményeket is felhasználtam. A fekete áfonya (*Vaccinium myrtillus* L.), a fekete ribizli (*Ribes nigrum* L.), a fekete bodza (*Sambucus nigra* L.), a meggy (*Prunus cerasus* L.), a homoktövis (*Hippophae rhamnoides* L.) és a tőzegáfonya (*Vaccinium oxycoccus* L.) terméseiből készült sűrítményeket a GPS Powder Kft.-től kaptam.

### Állatkísérletek

Az állatkísérleteket „1998. évi XXVIII. törvény az állatok védelméről és kíméletéről”, és az az alapján kiadott „243/1998. (XII. 31.) Korm. rendelet az állatkísérletek végzéséről”, valamint a „A Kormány 40/2013. (II. 14.) Korm. rendelete az állatkísérletekről” jogszabályok által meghatározott jogi kereteknek megfelelően végeztük.

### Elemösszetétel és redox-homeosztázis változása meggyliofilizátum-fogyasztás hatására patkányban

A patkánykísérlethez hím Wistar patkányokat (TOXI-COOP Zrt.) alkalmaztunk. A vizsgálathoz 3 különböző meggyfajtát, a Pipacs 1 (M1), a Fanal (M2) és az Újfehértói fürtös (M3), liofilizált mintáját használtuk fel. A patkányokban „short-term” kísérletben alimentárisan hyperlipidaemiát és következményes zsírmájat idéztünk elő a normál táphoz adott 1 m/m% koleszterin, 0,3 m/m% kólsav és 11 m/m% napraforgóolaj etetésével. A meggyliofilizátumból naponta 0,75 g/ ttkg-ot ad libitum fogyasztottak az állatok.

A patkányokat 8 csoportba osztottuk, csoportonként 5 állattal. Az 1. csoport kontrolltápot (egészséges), a 2. csoport zsírdús tápot (zsírmájjas), a 3-5. csoportok a kontrolltápra kevert meggyliofilizátumot (M1, M2, M3), a 6-8. csoportok a zsírdús tápra keverve meggyliofilizátumot (M1, M2, M3) kapott. Végül a patkányokat ketaminnal (75 mg/ttkg) és xilazinnal (7,5 mg/ttkg) narkotizáltuk, majd a laparotomiát követően a hasi vénából vért gyűjtöttünk, és az állatokat elvéreztettük. A patkányszerveket eltávolítottuk és jéghideg izotóniás NaCl-oldattal (0,9 m/m%) mostuk. A vértől megtisztított májdarabokat Potter-Elvehjem készülékben homogenizáltuk. Ezt követően a mintákat -20 °C tároltuk a mérések megkezdéséig. A fehérjetartalom meghatározást Lowry és mtsai [15] szerint végeztük, mintáinkat bovine szérumalbuminra nézve 10 mg/ml koncentrációjára hígítottuk izotóniás só (NaCl) oldattal.

### **Elemösszetétel és redox-homeosztázis változása mikotoxinos táp fogyasztásának hatására *Silybum marianum* magolaj- és préselvénykiegészítés mellett kacsamájban**

A vizsgálatainkhoz 24 magyar nőtény fehér hibrid kacsát (Szarvas K94) alkalmaztunk, melyeket 3 csoportba osztottunk csoportonként 8 állattal. A kacsák 14 napig indító, ezt követően (14-47 nap) nevelő tápot fogyasztottak. Mindegyik csoport mikotoxinnal természetes módon szennyezett (4,9 µg/g Deoxinivalenol, 0,66 µg/g Zearalenon) kukoricát tartalmazó takarmányt fogyasztott, de két csoport tápja a *Silybum marianum* (SM) mag kivonatát is tartalmazta különböző formában. Az 1. csoport (MT) mikotoxinnal szennyezett kukoricát fogyasztott. A 2. csoport (MT+SM1) mikotoxinos tápja 0,1% *Silybum marianum* olajat, a 3. csoport (MT+SM2) tápja 0,1% *Silybum marianum* olajat és 0,5% préselvényt tartalmazott. A kacsák terminálása széndioxiddal történt a 47. napon. A jeges hűtés mellett kivéreztetett állati májakat 0,9 m/m% NaCl-oldattal mostuk majd aprítottuk. A vértől megtisztított májdarabokat Potter-Elvehjem készülékben homogenizáltuk, majd -20 °C tároltuk a mérések megkezdéséig. A fehérjetartalom meghatározást Lowry és mtsai [15] szerint végeztük, mintáinkat bovine szérumalbuminra nézve 10 mg/ml koncentrációjára hígítottuk izotóniás NaCl oldattal.

### **Humán tanulmány**

A tanulmány az etikai engedélyekkel összhangban történt, melyet a Magyar Tudományos és Kutatásetikai Bizottság (engedély szám: TUKEB 167/1997, 15/2004) és a Semmelweis Egyetem Intézeti Kutatásetikai Bizottsága (engedély

szám: IKEB 3944/2004) engedélyezett.

A tanulmányban 42 önkéntes,  $62,1 \pm 15,9$  életkorban lévő páciens adatait értékeltük ki, akiket az orvos 5 csoportba sorolt: 1. csoport: BK (betegkontroll-csoport), 2. csoport: D<sub>3</sub>+BK (D<sub>3</sub>-vitaminnal kezelt betegkontroll-csoport), 3. csoport: MKPR (magas kockázatú prosztatatarákosok csoportja), 4. csoport: D<sub>3</sub>+MKPR (D<sub>3</sub>-vitaminnal kezelt magas kockázatú prosztatatarákosok csoportja), 5. csoport: D<sub>3</sub>+PR (hormon és D<sub>3</sub>-vitamin-kezelésben részesült rákos betegek csoportja). A D<sub>3</sub>-vitamin a gyógyszertárban kapható általános kereskedelmi forgalomban elérhető termék volt.

A vérmintákat 3,2%-os nátrium-citrát antikoaguláns Vacutainer csövekbe (Greiner Bio-One, Magyarország, Vacutainer, USA) gyűjtöttük és 4 °C-on tároltuk. A vérminták előkészítése szabványos rutin laboratóriumi módszerekkel történt. A vér szeparálási folyamatot a vérvételt követő 1,5 órán belül megkezdtük, melynek során az eritrocita frakciót elkülönítettük a vérplazmától 2500 rpm fordulatszámon 10 perc ülepedési idő mellett. Ezt követően az eritrocita frakcióról eltávolítottuk a „buffy coat”-ot, majd izotóniás (0,9 m/m%) NaCl sóoldattal mostuk. A megtisztított eritrocita nyers frakcióját (20 µl) 1%-os hemoglobintartalomra standardizáltuk CHR (5 ml) hemoglobinreagenssel. A vizsgálatokig az eritrocitákból és vérplazmából készült mintáinkat -20 °C-on tároltuk, majd a redox-paramétereket és az elemösszetételt határoztuk meg.

### A minták elemzése

A minták elemösszetételének meghatározása savas roncsolást követően (67%-os salétromsav (HNO<sub>3</sub>), 36%-os sósav (HCl) és 30%-os hidrogén peroxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)) induktív csatolású plazma optikai emissziós spektrometriás (ICP-OES) eljárással történt. A teljes polifenoltartalmat Singleton és Rossi módszere alapján [16] határoztuk meg, és az eredményeket galluszsav egység/g minta mértékegységben adtuk meg. A növényi eredetű mintákban a VIII. Magyar Gyógyszerkönyv (2006) alapján határoztuk meg az aszkorbinsav mennyiségét.

A H-donor-aktivitást Hatano [17] és Blois [18] módszere alapján difenil-pikrilhidrazil (DPPH) stabil gyök segítségével, spektrofotometriás módszerrel mértük. A szabadgyökfogó kapacitást Blázovics és mtsai alapján, luminometriás eljárással határoztuk meg [19]. A redukálóképességet spektrofotometriás módszerrel vizsgáltuk, Oyaizu szerint [20]. A szabad szulfhidril-csoportok koncentrációját Ellman és Lysko módszere alapján [21], 5,5'-ditio-bisz-(2-

nitrobenzoesav) (DTNB) reagenssel határoztuk meg. A dién-konjugátum-tartalmat a Hivatalos Analitikai Kémikusok Szövetségének (AOAC) módszere alapján spektrofotometriás eljárással mértük. A malondialdehid-tartalmat Ottolenghi módszerének módosított változata alapján határoztuk meg [22].

### **Statisztikai értékelés**

A számításokhoz és a statisztikai analízishez Microsoft Office Excel 2016-ot és Statisztika 7 programokat használtuk (StatSoft Inc., Tulsa. USA). Az adatok normalitás vizsgálatához a Shapiro-Wilks és a Kolmogorov-Smirnov tesztet alkalmaztuk. Kettőnél több független minta kiértékelése ANOVA varianciával vagy Kruskal-Wallis próbával történt, amennyiben a minták normalitása vagy a varianciák inhomogenitása miatt az ANOVA nem volt alkalmazható. Továbbá, ANOVA Tukey post-hoc teszt segítségével állapítottuk meg, hogy mely kezelések okoznak szignifikáns eltérést. Amennyiben a minták normalitása vagy a varianciák inhomogenitása miatt nem volt alkalmazható a t-próba vagy az ANOVA Tukey post-hoc teszt, abban az esetben a nem paraméteres Mann-Whitney U-tesztet, vagy a Kruskal-Wallis tesztet alkalmaztuk. Az állatkísérletekből származó májmintákban mért eredmények összehasonlításához szignifikáns különbségnek a  $p < 0,05$  szintet, a humán plazma és eritrocita eredmények összehasonlításához a  $p < 0,01$  szintet tekintettük. Az adatok közötti korreláció kiszámításához Spearman rangsor korrelációt használtunk. A korrelációkat  $p < 0,05$  szignifikancia szintnél tekintettük szignifikánsnak.

### **Eredmények és az eredmények megbeszélése**

#### **Növényi minták, kivonatok és étrendkiegészítők eredményeinek értékelése**

A vizsgálatok során olyan gyógynövényeket és azok kivonatait tanulmányoztam, amelyeket előszeretettel alkalmaznak Európában a betegséget megelőző terápia részeként, valamint a távol-keleti orvoslásban. Kérdések vetődnek fel, hogy a készítményekben mérhető fémelem és antioxidáns összetétel és koncentráció ártalmas lehet-e az egészségre, valamint, hogy a növényekben és készítményeikben mért elemösszetétel befolyásolja-e azok antioxidáns tulajdonságát.

A vizsgált gyógynövény- és gyümölcskészítmények egyesével jelentős mennyiségű fémes és nem fémes komponenst tartalmaznak. A gyógynövény drogokban mért elemösszetétel eredmények alapján megállapítható, hogy a

talajalkotó fémkomponensek (Al, Cr, Fe, Ti) az átlagos növényi koncentrációt (Al>200 µg/g, Cr>0,2 µg/g, Fe>300 µg/g, Ti>2 µg/g) meghaladó mértékben voltak jelen a csalánlevél (Al: 476,8±6,3 µg/g, Cr: 1,56±0,21 µg/g, Fe: 443,3±32 µg/g, Ti: 32,21±0,30 µg/g), a körömvirágszirom (Al: 1558±3 µg/g, Cr: 6,17±0,34 µg/g, Fe: 1401±65 µg/g, Ti: 87,31±2,10 µg/g), a csüdfűgyökér (Al: 650±26 µg/g, Cr: 1,72±0,26 µg/g, Fe: 628,0±25,9 µg/g, Ti: 24,24±1,34 µg/g), a kurkumagyökér (Al: 502±52 µg/g, Cr: 0,877±0,075 µg/g, Fe: 373,0±34,9 µg/g, Ti: 8,87±1,03µg/g) és a ginzenggyökér (Al: 1240±15 µg/g, Cr: 2,52±0,24 µg/g, Fe: 1242±23 µg/g, Ti: 28,07±0,70 µg/g) mintákban, mely irodalmi adatok alapján a minták talajszennyezettségére vagy a talaj savasságára utalhat [23, 24] .

A kivonatkészítéssel a drogban lévő esszenciális és szennyező fémes és nemfémes komponensek egyaránt kioldódnak a kivonatokba, de azok abszolút fémelemtartalma nagyságrendileg kisebb a gyógynövénydrogok és a elemtartalmához viszonyítva. Továbbá, a tinktúrákban tendenciózusan a Mg-felé tolódik el a Ca:Mg arány a porkészítményekben mért eredményekhez képest, feltehetően a Ca- és Mg-vegyületek etil-alkoholban történő oldhatóságának köszönhetően. Ennek alapján a tinktúrák kedvező hatással lehetnek a Mg felszívódására, mely segíthet a gasztrointesztinális betegségekben lejátszódó proinflammatorikus folyamatok enyhítésében.

A gyógynövények tinktúrájában mért antioxidáns tulajdonság koncentrációtól függő módon korrelál a bennük lévő elemösszetétellel és a hatóanyag-tartalommal. Az antioxidáns tulajdonságot leíró paraméterek (H-donor aktivitás, redukálóképesség, antioxidáns kapacitás) általában egyenes arányban függenek össze egymással. Amennyiben ez a tendencia nem áll fenn, az valószínűleg az elemösszetétellel áll összefüggésben. Töményebb koncentrációkban megfigyelhető volt a magasabb összes polifenoltartalom mellett a csökkenő indukált szabadgyök-szint, azonban hígabb koncentrációkban ennek ellenkező tendenciáját tapasztaltuk.

A tinktúrák alacsony koncentrációiban mért 100% feletti relatív fényintenzitás (relative light unit, RLU%) értékek indukált szabad gyökök jelenlétét jelzik, mely feltehetően a rendszerben jelenlévő magas Cu-tartalom katalitikus hatásának köszönhető.

A gyümölcsűritmények szabadgyökfogó-kapacitása kisebb koncentrációban

nem mutatott antioxidáns tulajdonságot, azokban az esetekben, ahol 100% háttérintenzitáshoz képest magasabb RLU% értékeket kaptunk (fekete áfonyatermés (2 mg minta /ml):  $750,4 \pm 20,3$  RLU%, meggytermés (2 mg minta /ml):  $425,3 \pm 18,1$ ). Ez a szabad gyökök megemelkedett mennyiségére utal az általunk használt rendszerben, mely feltehetően a kisebb koncentrációknál függ a fémkomponensek (Cr- és Fe-tartalom pl. fekete áfonyatermés sűrítménye, Cu- és Fe-tartalom pl. meggytermés sűrítménye) katalitikus hatásától. Ezzel szemben az alacsony Fe-tartalommal rendelkező gyümölcs-sűrítmény antioxidáns tulajdonsága kiemelkedő volt (pl. tőzegáfonyatermés sűrítménye). Továbbá, eredményeink bizonyítják, hogy a jelentős hatóanyagtartalom mellett a potenciálisan antioxidáns tulajdonságú fémkomponensek (Mg, Mn, Zn) is kedvező befolyással vannak a szabadgyökfogó képességre a homoktövistermés és a páfrányfenyő tinktúra esetében.

A gyógynövény és gyümölcs kivonatok napi adagjával bevihető fémkomponensek mennyiségét összevetve a tápanyag referencia értékekkel (NRV) azt tapasztalhatjuk, hogy egyes kapszulák és gyümölcs-sűrítmények fogyasztásával jelentősen fedezhető a Cr (60%), a Mn (30%) és a Mo (21%), míg a tinktúrákba kioldódó fémkomponensek NRV-fedezete nem jelentős [25]. Összességében a vizsgált szárított gyógynövények, porkészítmények, étrendkiegészítők és a kivonatok tisztasági szempontból megfelelnek a VIII. Magyar Gyógyszerkönyv és az Élelmiszerkönyv előírásainak, szennyező fémkomponenseket nem tartalmaznak a megengedett határértékek felett, ezért a mindennapi fogyasztásuk nem jelenthet különösebb veszélyt.

## **Állatkísérletes vizsgálatok eredményeinek értékelése**

### **Meggyliofilizátum-kezelés hatása a patkányszervek elemösszetételére és a redox-homeosztázisra**

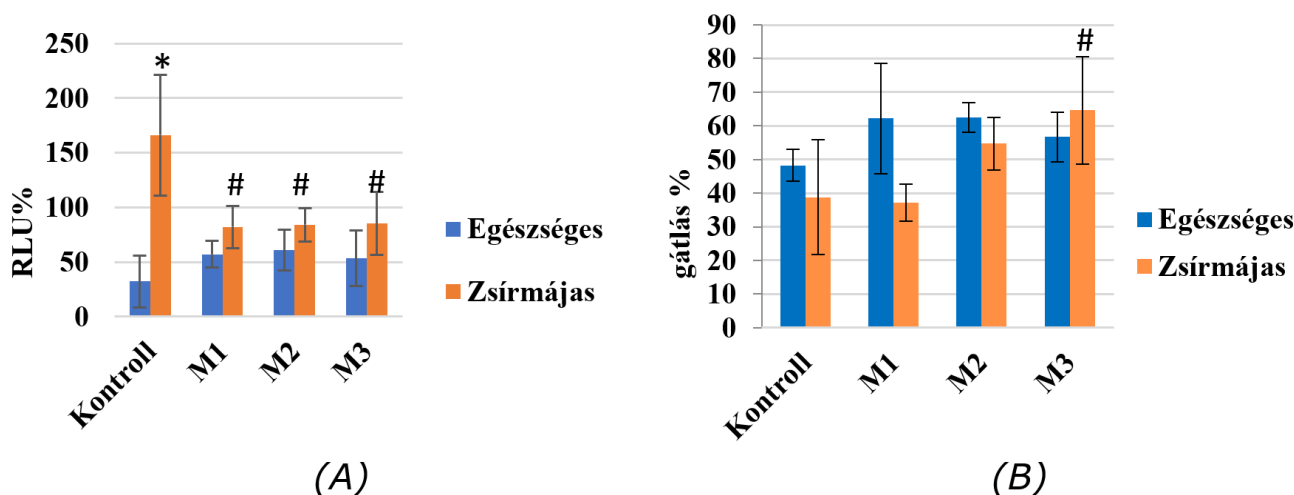
Short-term patkánykísérletben vizsgáltam az igazoltan antioxidáns hatású meggyliofilizátumok (Fanal (M1), Pipacs1 (M2), Újfehértói fürtös (M3)) fogyasztásának következtében kialakuló elemösszetétel és redox-homeosztázis változását egészséges egyedek és alimentárisan előidézett májkárosodásban szenvedők különböző szövetmintáiban.

Eredményeink alapján a meggyliofilizátum-fogyasztás következtében májban, szívben és tüdőben kialakuló elemösszetétel jelentős eltérést mutat a meggykezelésben nem részesülő egészséges és a zsírmájjas csoportokban mért értékekhez képest.

A zsírmájjas állatok májában mért elemösszetétel közül az Újfehértói fürtös (M3) fogyasztása következtében alakult ki szignifikáns különbség a legtöbb fémkomponensnél (Ba, Cu, Fe, Li, Mg, Mn, Ni, P, Pb, Sr, Zn), melyek mennyisége jelentősen alacsonyabb a meggydiétában nem részesülő zsírmájjas csoportban mért elemösszetételhez viszonyítva.

A zsírmájjas egyedek májában a Cu, Mn, Mg, P, Zn koncentrációja következetesen alacsonyabb mind a meggyliofilizátum-kezelésben (M1, M2, M3), mind pedig a kezelésben nem részesülő csoportokban a kontrollcsoport értékeihez viszonyítva.

Pozitív tendencia figyelhető meg a patkánymájban mért antioxidáns kapacitást illetően zsírmájban, mert az indukált szabadgyök-szint a zsírmájjas kezeltéknél szignifikánsan alacsonyabb volt (zsírmájjas+M1:  $81,97 \pm 19,46$  RLU%, zsírmájjas+M2:  $83,95 \pm 15,32$  RLU%, zsírmájjas+M3:  $85,18 \pm 28,60$  RLU%) a nem kezelt zsírmájjas csoportban mért átlagértékhez ( $166 \pm 55$  RLU%) képest, míg a H-donor aktivitás (gátlás%) magasabb az M2 és M3 meggyliofilizátummal kezelt csoportokban (zsírmájjas+M2:  $54,71 \pm 7,79$  gátlás%, zsírmájjas+M3:  $64,59 \pm 15,90$  gátlás%) a kezelésben nem részesült zsírmájjas csoporthoz viszonyítva ( $38,81 \pm 16,98$  gátlás%).



**1. ábra. Meggyliofilizátum-kezelés következtében kialakuló A) indukált szabadgyök-szint és B) H-donor aktivitás patkánymájban, egészséges és zsírmájjas csoportokban.** Az ábrákon a mérési eredmények átlaga és szórása (átlag±szórás) került feltüntetésre ( $n=5$ ). \*Szigifikáns ( $p<0,05$  Mann-Whitney) különbség az egészséges kontrollcsoportéhoz képest, #szigifikáns ( $p<0,05$ ) különbség a zsírmájjas kontrollcsoportéhoz képest; M1: „Pipacs 1” típusú meggy, M2: „Fanal” típusú meggy, M3: „Újfehértói fürtös” típusú meggy.

Mindkét paraméter egyszerre az M3-meggykezelésben részesült zsírmájjas csoport esetén tér el szignifikánsan a kezelésben nem részesült zsírmájjas csoporttól, mely szerint a zsírmájban kialakuló szabadgyök-szint mérséklődött.

A patkányok szívében mért elemösszetétel eredménye alapján az Újfehértói fürtös (M3) fogyasztása következtében szignifikánsan lecsökkent a Cu-koncentráció a zsírmájias állatok szívében (ami betegségekben általában szignifikánsan magasabb). Emellett szignifikánsan megemelkedett a Zn-koncentráció, amellyel feltételezhetően magyarázható a meggy hatóanyag-tartalmának protektív hatása, amely beindítja a Zn, mint másodlagos hírvivő által aktiválódó immunfolyamatokat. A jelentős Zn-mennyiség, továbbá összefüggésben állhat az Újfehértói fürtös (M3) kiemelkedő Zn-tartalmával. Megállapítható továbbá, hogy a Cu:Zn arány, mint gyulladási mutató lecsökkent a meggyliofilizátum-kezelés következtében mind az egészséges, mind a zsírmájias csoportok szívében.

A Pipacs1-el (M1) kiegészített tápot fogyasztó egészséges csoportok szívében és tüdejében a Li-koncentráció nagymértékben megemelkedett a kontroll-csoportéhoz képest, amely összefüggést mutat a Pipacs1 (M1)-ben lévő kiemelkedő Li-koncentrációval, noha az összefüggés nem szignifikáns.

Az elemösszetétel és a redox eredmények alapján megállapítható, hogy a meggy szerves beltartalmi értékei kedvező hatással vannak az elzsírosodás következtében felborult redox-homeosztázisra patkánymájban. A meggy antioxidáns tartalmának köszönhetően csökkent a szabad gyökök szintje és javult az antioxidáns védelem patkánymájban, melyet a hisztológiai vizsgálatok eredményei is alátámasztanak.

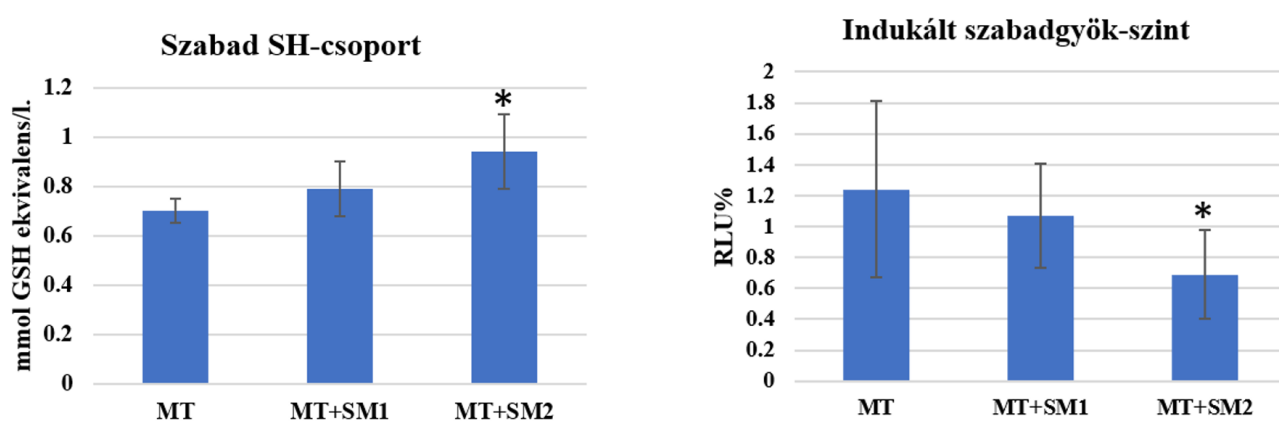
A háromfajta meggytípussal kezelt zsírmájias állatok szerveiben mért elemösszetételben szignifikáns különbségek alakultak ki a csak zsírdús tápot fogyasztó csoportéhoz képest, míg az egészséges csoportokban nem látható ugyanez a mértékű tendencia [26].

Az eredmények alapján elmondhatjuk, hogy különböző meggyfajták mint általános táplálkozási faktorok fogyasztásának hatására megváltozik a máj, a szív és a tüdő elemösszetétele mind egészséges, mind pedig zsírmájias egyedekben a meggy beltartalmi értékeinek (polifenoljai, fémelemtartalma) köszönhetően. Feltételezhetjük, hogy a meggyfajták elemösszetétele mellett a különböző polifenoltartalom is befolyásolhatja a fémkomponensek eltérő koncentrációban történő felszívódását a szövetekbe. Továbbá, megállapíthatjuk, hogy a szervek különbözőképpen veszik fel a keringésből a fémkomponenseket egészséges és zsírmájias egyedekben. Ezért a témakör további vizsgálata

különös fontosságú, kiemelten a fémionokat halmozó betegségek esetén (porfiria cutanea tarda, Wilson kór), illetve a fémionpótlást igénylő kórképek kezelésekor, a táplálkozási szokások figyelembevételével.

### ***Silybum marianum* magolaj és préselvény hatása a mikotoxinnal szennyezett tápot fogyasztó kacsák májának elemösszetételére és redox-homeosztázisára**

A 47 napig tartó kezelés után a kacsamájából mért redox-paraméterek és az elemösszetétel eredményei alapján a mikotoxinnal szennyezett kacsatáphoz adott *Silybum marianum*-kivonat (SM-olaj és préselvény) fogyasztásának következtében jelentős, esetenként szignifikáns különbségek alakultak ki a csoportok között a kacsák májában mind az elemösszetételben (Al, Fe, Mg, Mn, Zn), mind pedig a redox-paraméterekben. Pozitív eltérés figyelhető meg az SM-kiegészített takarmányt fogyasztó csoportok és a MT csoport között. A szabad SH-csoport koncentráció, a H-donor aktivitás az SM-kiegészített tápot fogyasztó csoportokban szignifikánsan jobb, a csak mikotoxinos tápot fogyasztó csoporthoz képest (MT). A kacsák takarmányaiból mért indukált szabadgyök-szint a MT+*Silybum marianum* magolajat és préselvényt (SM2) tartalmazó takarmányban a legalacsonyabb ( $29,65 \pm 4,62$  RLU%), ami a takarmány jó antioxidáns tulajdonságára utal. Ez az eredmény jól korrelál a MT+SM2 csoport májában mért indukált szabadgyök-szinttel ( $0,69 \pm 0,29$  RLU%), mert az szignifikánsan alacsonyabb az MT csoportban mért eredményhez képest ( $1,24 \pm 0,57$  RLU%).



**2. ábra. A szabad SH-csoport és indukált szabadgyök-szint kacsamájában mért eredményei mikotoxinos táp fogyasztásának hatására *Silybum marianum* magolaj és préselvény kiegészítés mellett.** Az ábrákon a mérési eredmények átlaga és szórása (átlag±szórás) került feltüntetésre (n=8). \*MT-hez képest szignifikáns különbség  $p < 0,05$ ; Mann-Whitney próbával, MT: Mikotoxinnal szennyezett kukorica alapú táp, MT+SM1: *Silybum marianum* olaj-kiegészítés, MT+SM2: *Silybum marianum* olaj- és préselvény-kiegészítés.

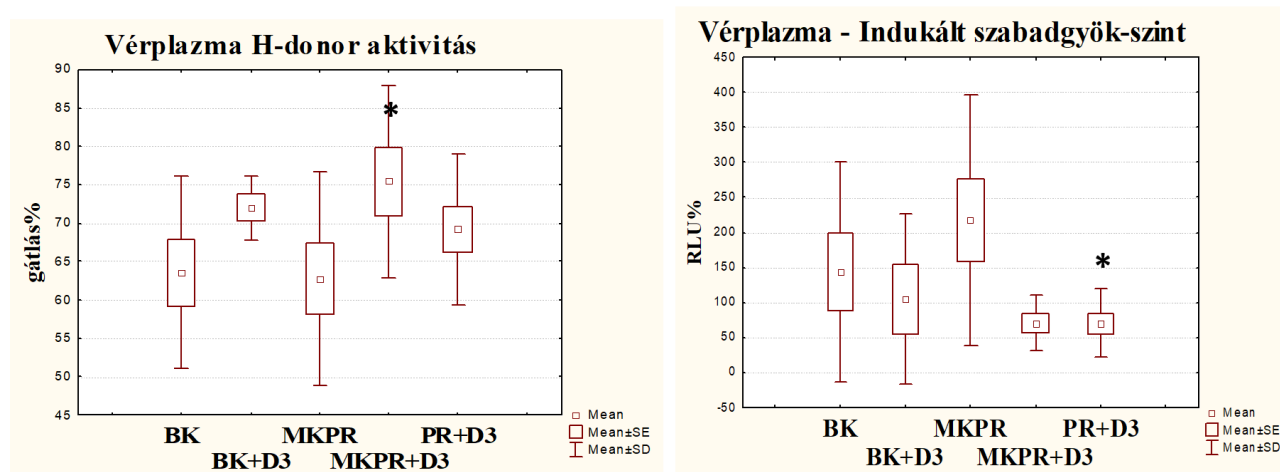
A legjobb redukálóképesség és szignifikánsan magasabb SH-csoport eredményeket szintén a MT+SM2 csoport májában kaptuk, mely redukáltabb környezet kialakulására utal a májszövetben, az SM-kiegészítésnek köszönhetően.

Eredményeinkből megállapítható, hogy az SM-kiegészített mikotoxinnal szennyezett takarmány fogyasztása során a máj antioxidáns rendszere képes volt mérsékelni a mikotoxinok által generált peroxidatív folyamatokat, részben az alkalmazott SM-dózisok hatására. Továbbá, a rövidtávú mikotoxinterhelés okozta szabadgyök-károsodás mérséklődik a májban megtalálható endogén antioxidáns enzimek (glutathion-redox rendszer) aktivitása révén.

## Humán tanulmány

### D<sub>3</sub>-vitamin-kezelés hatására kialakuló elemösszetétel és redox-homeosztázis változás prosztatarákos betegekben

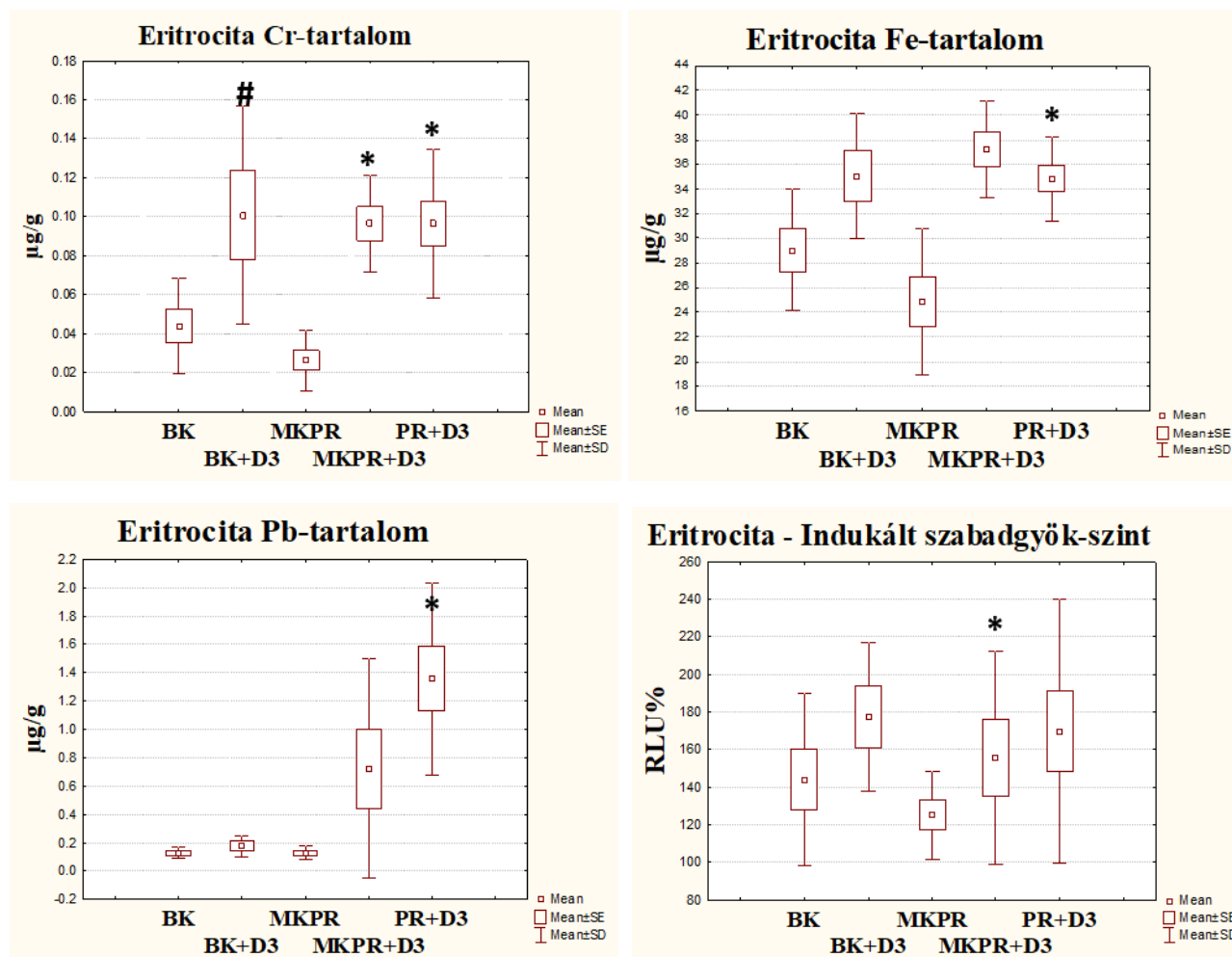
Az elemösszetétel és a redox-paraméterek eredményei alapján jelentős különbségek alakultak ki a csoportok között a D<sub>3</sub>-vitamin-kezelés következtében, melynek alapján feltételezhetjük, hogy a D<sub>3</sub>-vitamin rendszeres kontrollált bevitele befolyással van a szervezet elemösszetételére és a redox-homeosztázisra a betegek szervezetében.



**3. ábra.** A 3 évig tartó D<sub>3</sub>-vitaminnal kezelt csoportok vérplazmájában mért H-donor aktivitás és indukált szabadgyök-szint eredményei. \*Szignifikáns különbség a MKPR csoporthoz képest ( $p < 0,01$ , Mann-Whitney próba); BK: betegkontroll-csoport ( $n=8$ ); D<sub>3</sub>+BK: D<sub>3</sub>-vitaminnal kezelt betegkontroll-csoport ( $n=9$ ); MKPR: magas kockázatú prosztatarákosok csoportja ( $n=6$ ); D<sub>3</sub>+MKPR: D<sub>3</sub>-vitaminnal kezelt magas kockázatú prosztatarákosok csoportja ( $n=8$ ); D<sub>3</sub>+PR: hormon és D<sub>3</sub>-vitaminnal kezelt rákos betegek csoportja ( $n=11$ ).

A D<sub>3</sub>-vitamin szupplementáció következtében nőtt a mikro- és makro-fémkomponensek koncentrációja eritrocitában és javultak a plazmafrakcióban mérhető redox-értékek (RLU%, H-donor aktivitás). A prosztatarákos betegek eritrocitáiban a D<sub>3</sub>-vitamin-kezelés kedvező hatással volt az esszenciális

fémkomponensek (Ca, Co, Cr, Mn, Mg, Ni és Zn) metabolizmusára, mivel koncentrációjuk a kontroll értékét közelítették. Ugyanakkor, a D<sub>3</sub>-vitamin-kezelés következtében prosztatarákosokban kialakuló Li-hiány lehetősége további vizsgálatot igényel.



**4. ábra. A 3 évig tartó D<sub>3</sub>-vitaminnal kezelt csoportok eritrocitájában mért Cr, Fe és Pb tartalom, valamint indukált szabadgyök-szint.** #Szignyifikáns különbség a BK csoporthoz képest  $p < 0,01$ ; \*szignifikáns különbség a MKPR csoporthoz képest ( $p < 0,01$ , Mann-Whitney próba); BK: betegkontroll-csoport ( $n=8$ ); D<sub>3</sub>+BK: D<sub>3</sub>-vitaminnal kezelt betegkontroll-csoport ( $n=9$ ); MKPR: magas kockázatú prosztatarákosok csoportja ( $n=6$ ); D<sub>3</sub>+MKPR: D<sub>3</sub>-vitaminnal kezelt magas kockázatú prosztatarákosok csoportja ( $n=8$ ); D<sub>3</sub>+PR: hormon és D<sub>3</sub>-vitaminnal kezelt rákos betegek csoportja ( $n=11$ ).

A vérplazmában mért H-donor aktivitás eredményei alapján valószínűsíthető, hogy a D<sub>3</sub>-vitamin-kezelés kedvezően befolyásolta az antioxidáns rendszert, mert a kezelésben résztvevő betegkontroll (D<sub>3</sub>+BK: 72,0±4,2 gátlás%) és rákos csoportokban (D<sub>3</sub>+MKPR: 75,5±12,5 gátlás%, D<sub>3</sub>+PR: 69,2±9,9 gátlás%) is következetesen jobb eredményeket kaptunk, mint a D<sub>3</sub>-vitamin-kezelésben nem részesült csoportokban (BK: 63,6±12,5 gátlás%, MKPR: 62,8±14,0 gátlás%). A D<sub>3</sub>-vitaminnal kezelt csoportok plazmájában mért szabadgyök-szint alacsonyabb

(D<sub>3</sub>+BK: 105±122 RLU%, D<sub>3</sub>+MKPR: 71±40 RLU%, D<sub>3</sub>+PR: 71±49 RLU%), mint a D<sub>3</sub>-vitamin-kezelésben nem részesült csoportokban (BK: 144±157 RLU%, MKPR: 217±179 RLU%) mért értékek, mely nagyobb antioxidáns kapacitásra utal a D<sub>3</sub>-vitaminnal kezelt csoportokban. Szignifikáns ( $p<0,01$ ) különbséget kaptunk a D<sub>3</sub>-vitaminnal kezelt prosztatarákos csoportok és a D<sub>3</sub>-vitamin kezelésben nem részesült MKPR csoport értékei között.

Az eredmények alapján a D<sub>3</sub>-vitamin-kezelés hozzájárulhat a redox-homeosztázis egyensúlyának visszaállításához, amely pozitív befolyással lehet a rák progressziója ellen. Továbbá, a D<sub>3</sub>-vitamin-szupplementáció elősegítheti az Pb, a Cr, és a Fe felhalmozódását eritrocitában, emellett megemelheti az eritrocitákat érő szabadgyök-terhelést, mely feltételezhetően összefüggésben áll az elemösszetétellel [27].

### Irodalomjegyzék

- [1] Tapiero, H., Tew, K.D. (2003) Trace elements in human physiology and pathology: zinc and metallothioneins. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **57**: 399-411.
- [2] Devasagayam, T., Tilak, J.C., Bloor, K.K., Ketaki, Sane, S., Saroj, Ghaskadbi, S., Lele, R.D. (2004) Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *Japi*, **52**: 4.
- [3] Matés, J.M., Pérez-Gómez, C., De Castro, I.N. (1999) Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*, **32**: 595-603.
- [4] Vanacore, R.M., Jeffrey, D., Eskew, Pedro, J., Morales, L., Sung, A.S. (2000) Role for Copper in Transient Oxidation and Nuclear Translocation of MTF-1, but Not of NF- $\kappa$  B, by the Heme-Hemopexin Transport System. *Antioxidants & Redox Signaling*, **2**: 739-752.
- [5] Blazovics, A. (2007) Redox homeostasis, bioactive agents and transduction therapy. *Current Signal Transduction Therapy*, **2**: 226-239.
- [6] Lakatos, B., Szentmihályi, K., Vinkler, P., Balla, G., Balla, J. (2004) Physiologic and pathologic role of iron in the human body. Iron deficiency anemia in newborn babies. *Orvosi Hetilap*, **145**: 1853-1859.
- [7] Tram, N.K., McLean, R.M., Swindle-Reilly K.E. (2021) Glutathione improves the antioxidant activity of vitamin C in human lens and retinal epithelial cells: implications for vitreous substitutes. *Current Eye Research*, **46**: 470-481.
- [8] Rajendran, M., Paramasivam M., Rathinasamy G., Ramachandran M. (2004) Free radicals scavenging efficiency of a few naturally occurring flavonoids: a comparative study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**: 7389-

7394.

- [9] Széles, G., Vokó, Z., Jenei, T., Kardos, L., Pocsai, Z., Bajtay A., Papp, E., Pásti G., Ádány, R. (2005) A preliminary evaluation of a health monitoring programme in Hungary. *The European Journal of Public Health*, **15**: 26-32.
- [10] Dvorska, J., Surai P. (2001) Effects of T-2 toxin, zeolite and Mycosorb on antioxidant systems of growing quail. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, **14**: 1752-1757.
- [11] da Cruz Cabral, L., Pinto, V.F., Patriarca, A. (2013) Application of plant derived compounds to control fungal spoilage and mycotoxin production in foods. *International Journal of Food Microbiology*, **166**: 1-14.
- [12] Tiwari, B.K., Vasilis, P., Valdramidis, Colm P. O' D., Kasiviswanathan, M., Paula, B., Cullen, P.J. (2009) Application of natural antimicrobials for food preservation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **57**: 5987-6000.
- [13] Egresi, A., Süle, K., Szentmihályi, K., Blázovics, A., Fehér, E., Hagymási, K., Fébel, H. (2020) Impact of milk thistle (*Silybum marianum*) on the mycotoxin caused redox-homeostasis imbalance of ducks liver. *Toxicon*, **187**: 181-187.
- [14] Takács, I., Benkő, I., Toldy, E., Wikonkál, N., Szekeres, L., Bodolay, E., Kiss, E., Jambrik, Z., Lakatos, P. (2012) Hazai konszenzus a D-vitamin szerepéről a betegségek megelőzésében és kezelésében. *Orvosi Hetilap*, **153**: 5-26.
- [15] Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J. (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, **193**: 265-275.
- [16] Blázovics, A., Sárdi, É. (2018) Methodological repertoire development to study the effect of dietary supplementation in cancer therapy. *Microchemical Journal*, **136**: 121-127.
- [17] Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, **16**: 144-158.
- [18] Hatano, T., Kagawa, H., Yasuhara, T., Okuda, T. (1988) Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effects. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **36**: 2090-2097.
- [19] Blois, M.S. (1958) Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 1199-1200.
- [20] Oyaizu, M., (1986) Studies on products of browning reaction. *Japanese Journal of Nutritional Dietetics*, **44**: 307-315.
- [21] Ellman, G.L., Lysko, H. (1967) Disulfide and sulfhydryl compounds in TCA extracts of human blood plasma. *Journal of Laboratory and Clinical*

*Medicine*, **70**: 518-527.

- [22] Ghani, M.A., Barril, C., Bedgood, D.R., Jr. Prenzler, P.D. (2017) Measurement of antioxidant activity with the thiobarbituric acid reactive substances assay. *Food chemistry*, **230**: 195-207.
- [23] Kabata-Pandias, A., Kabata-Pandias, A., Pendias, H.(1984) Trace elements in soils and plants. CRC Press, Incorporated.
- [24] Tyler, G., Olsson, T., (2001) Concentrations of 60 elements in the soil solution as related to the soil acidity. *European Journal of Soil Science*, **52**: 151-165.
- [25] Süle, K., Kurucz, D., Kajári, Á., May, Z. (2015) Európai és távol-keleti gyógynövények és kivonatok fémelemtartalom-vizsgálata. *Orvosi Hetilap*, **156**: 1261-1269.
- [26] Süle, K., Fehér, E., Blázovics, A., Fébel, H., Papp, N., Máti, E., May, Z., Stefanovits, É.B., Szentmihályi, K. (2012) Changes in metal homeostasis in experimentally induced fatty liver by the effect of sour cherry consumption. *European Chemical Bulletin*, **1**: 360-363.
- [27] Süle, K., Szentmihályi, K., Szabó, G., Kleiner, D., Varga, I., Egresi, A., May, Z., Nyirády, P., Mohai, Jr. M., Blázovics A. (2018) Metal-and redox homeostasis in prostate cancer with vitamin D3 supplementation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **105**: 558-565.



**Süle Krisztina** 2013-ban a Budapest Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Vegyészmérnöki és Biomérnöki Karán Gyógyszer-vegyész mérnök mester szakon végzett. Ezen egyetem Villamosmérnöki és Informatika Karán 2014-ben szerzett abszolutóriumot az Egészségügyi mérnöki mester szakirányon. 2022-ben a Semmelweis Egyetem Gyógyszertudományok Doktori iskola, Gyógyszerészeti tudományok korszerű kutatási irányai program keretében PhD fokozat szerzett az Elemösszetétel és redox-homeosztázis vizsgálata növényi, állati és humán szervezetekben témakörben. Angol, német, spanyol és francia nyelven tud. Szakmai tapasztalatot több nemzetközi vállalatnál szerzett, gyógyszer-vegyészmérnökként a kutatásfejlesztés, az analitikai kémia és a gyártástechnológiai fejlesztés területein.

## **FELHÍVÁS**

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

Az „Áttekintő közlemények az MBKE tagjainak tollából” című rovatban a megjelenés formája az első oldal pdf változata (amennyiben ezt a folyóirat engedi) és egy, a cikkhez vezető link.

A review-k gyűjtését, szerkesztését Sarkadi Balázs vállalta, az első oldal pdf-et és a linket számára (sarkadi@biomembrane.hu) kérjük elküldeni.

A beküldés folyamatos.

***A Biokémia szerkesztőbizottsága***

## ÁTTEKINTŐ KÖZLEMÉNYEK AZ MBKE TAGJAINAK TOLLÁBÓL

(Szerkesztette: Sarkadi Balázs)

Dobó, J., Kocsis, A., Farkas, B., Demeter, F., Cervenak, L., Gál, P. (2024) The Lectin Pathway of the Complement System—Activation, Regulation, Disease Connections and Interplay with Other (Proteolytic) Systems. *Int. J. Mol. Sci.* **25**: 1566.

<https://doi.org/10.3390/ijms25031566>

Pankotai-Bodó, G, Oláh-Németh, O., Sükösd, F., Pankotai, T. (2024) Routine molecular applications and recent advances in breast cancer diagnostics. *J Biotechnol.*, **380**: 20.

<https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2023.12.005>



Review

# The Lectin Pathway of the Complement System – Activation, Regulation, Disease Connections and Interplay with Other (Proteolytic) Systems

József Dobó <sup>1</sup>, Andrea Kocsis <sup>1</sup>, Bence Farkas <sup>1</sup>, Flóra Demeter <sup>2</sup>, László Cervenak <sup>2</sup> and Péter Gál <sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Institute of Molecular Life Sciences, HUN-REN Research Centre for Natural Sciences, Hungarian Research Network, 1117 Budapest, Hungary; dobo.jozsef@ttk.hu (J.D.); kocsis.andrea@ttk.hu (A.K.); farkas.bence@ttk.hu (B.F.)

<sup>2</sup> Cell Biology and Cell Therapy Group, Research Laboratory, Department of Internal Medicine and Hematology, Semmelweis University, 1085 Budapest, Hungary; flora.demeter@gmail.com (F.D.); cervenak.laszlo@med.semmelweis-univ.hu (L.C.)

\* Correspondence: gal.peter@ttk.hu

**Abstract:** The complement system is the other major proteolytic cascade in the blood of vertebrates besides the coagulation–fibrinolytic system. Among the three main activation routes of complement, the lectin pathway (LP) has been discovered the latest, and it is still the subject of intense research. Mannose-binding lectin (MBL), other collectins, and ficolins are collectively termed as the pattern recognition molecules (PRMs) of the LP, and they are responsible for targeting LP activation to molecular patterns, e.g., on bacteria. MBL-associated serine proteases (MASPs) are the effectors, while MBL-associated proteins (MAPs) have regulatory functions. Two serine protease components, MASP-1 and MASP-2, trigger the LP activation, while the third component, MASP-3, is involved in the function of the alternative pathway (AP) of complement. Besides their functions within the complement system, certain LP components have secondary (“moonlighting”) functions, e.g., in embryonic development. They also contribute to blood coagulation, and some might have tumor suppressing roles. Uncontrolled complement activation can contribute to the progression of many diseases (e.g., stroke, kidney diseases, thrombotic complications, and COVID-19). In most cases, the lectin pathway has also been implicated. In this review, we summarize the history of the lectin pathway, introduce their components, describe its activation and regulation, its roles within the complement cascade, its connections to blood coagulation, and its direct cellular effects. Special emphasis is placed on disease connections and the non-canonical functions of LP components.

**Keywords:** complement lectin pathway; pattern recognition; protease; MASP; endothelial cells; ischemia reperfusion injury

**Citation:** Dobó, J.; Kocsis, A.; Farkas, B.; Demeter, F.; Cervenak, L.; Gál, P. The Lectin Pathway of the Complement System – Activation, Regulation, Disease Connections and Interplay with Other (Proteolytic) Systems. *Int. J. Mol. Sci.* **2024**, *25*, 1566. <https://doi.org/10.3390/ijms25031566>

Academic Editor: Georgios Pampalakis

Received: 21 December 2023

Revised: 22 January 2024

Accepted: 24 January 2024

Published: 26 January 2024



**Copyright:** © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction and Brief History of the Lectin Pathway

The complement system is an important effector arm of the innate immune system. It consists of about 40 protein components, both fluid-phase and cell-surface molecules. This remarkable molecular network carries the properties typical of the immune system in general: it can recognize, label, and eliminate pathogens and the dangerously altered host cells. The recognition function is mediated by pattern recognition molecules (PRMs) such as C1q, MBL, and ficolins. These PRMs typically contain globular domains responsible for binding to dangerous structures and collagen-like arms to which serine protease components bind. From an enzymatic point of view, the system can be considered a proteolytic cascade system, like the blood coagulation and the fibrinolytic systems. These proteolytic cascade systems in the blood are evolutionary and functionally closely related, and they form a single proteolytic network [1]. For practical and didactical



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Biotechnology

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/jbiotec](http://www.elsevier.com/locate/jbiotec)



## Routine molecular applications and recent advances in breast cancer diagnostics

Gabriella Pankotai-Bodó<sup>a,1</sup>, Orsolya Oláh-Németh<sup>a,b,1</sup>, Farkas Sükösd<sup>a</sup>, Tibor Pankotai<sup>a,b,c,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Pathology, Albert Szent-Györgyi Medical School, University of Szeged, Állomás utca 1, Szeged H-6725, Hungary

<sup>b</sup> Hungarian Centre of Excellence for Molecular Medicine (HCEMM), Genome Integrity and DNA Repair Core Group, Budapesti út 9, Szeged H-6728, Hungary

<sup>c</sup> Competence Centre of the Life Sciences Cluster of the Centre of Excellence for Interdisciplinary Research, Development and Innovation, University of Szeged, Dugonics tér 13, Szeged H-6720, Hungary

### ARTICLE INFO

#### Keywords:

Breast cancer  
Molecular classification  
Liquid biopsy  
MiRNA  
ctDNA  
Cancer diagnostics

### ABSTRACT

Cancer stands as one of the most common and lethal diseases, imposing a substantial burden on global mortality rates. Breast cancer is distinct from other forms of cancer in which it is the primary cause of death for women. Early detection of breast cancer can significantly lower the risk of mortality, improving the prognosis for those who are affected. The death rate of breast cancer has been steadily rising, according to epidemiological data, especially since the COVID-19 pandemic. This emphasizes the necessity of sensitive and precise technologies that can be utilized in early breast cancer diagnosis. In this process, biomarkers play a pivotal role by facilitating the early detection and diagnosis of breast cancer. Currently, a wide variety of cancer biomarkers have been identified, improving the accuracy of cancer diagnosis. These biomarkers can be applied in liquid biopsies as well as on solid tissues. In the context of breast cancer, biomarkers are particularly valuable for determining who is predisposed to the disease, predicting prognosis at the time of diagnosis, and selecting the best course of therapy. This review comprehensively explores the recently developed gene-based biomarkers from biofluids that are used in the context of breast cancer, as well as the conventional and cutting-edge techniques that have been employed for breast cancer diagnosis.

### 1. Introduction

Breast cancer (BC) is the most prevalent malignant tumor worldwide; 2.3 million new BC cases were estimated in 2020, according to the World Health Organization's (WHO) statistics (Sung et al., 2021). Typically, a core needle biopsy or tissue biopsy is performed to validate pathological characteristics in order to identify BC (Zhang et al., 2022). However, up to 30% of women diagnosed with cancer at an early stage might develop metastases or exhibit resistance to chemotherapy (Bonotto et al., 2014). For locally advanced BC, the conventional treatment approaches include surgery or mastectomy, with optional radiation therapy or neoadjuvant chemotherapy. It is necessary to classify the pathological subtypes in order to treat BC patients appropriately. Several studies have underscored the importance of delineating the molecular subtypes of BC, considering its heterogeneity in molecular characteristics and cellular composition (Salemme et al., 2023). These subtypes are essential for predicting the prognosis and therapeutic responses as well as treating

the disease (Fragomeni et al., 2018). The expression of hormone receptors, including human epidermal receptor 2 (HER2), progesterone receptors (PR), and estrogen receptors (ER), determines the molecular subtypes of BC in contemporary pathological diagnoses (Foulkes et al., 2010; Fragomeni et al., 2018).

The discovery of actionable biomarkers and the improvement of diagnostic tools have led to a constant evolution in the available alternatives for BC diagnosis. Traditionally, biomarker assessment relies on analyses which are conducted on tissue samples obtained with invasive surgical procedures or biopsies (Tomar et al., 2023). However, these analyses face challenges related to tumor heterogeneity and sampling constraints. The revolutionary idea of liquid biopsy has provided an innovative approach to overcome the limitations of conventional tumor specimens, particularly in the context of detecting circulating tumor DNA (ctDNA) which are DNA fragments derived from tumor cells (Santini et al., 2023). Liquid biopsy is a rapidly developing procedure for patients with BC, which encompasses the analysis of various

\* Corresponding author at: Department of Pathology, Albert Szent-Györgyi Medical School, University of Szeged, Állomás utca 1, Szeged H-6725, Hungary.  
E-mail address: [tibor.pankotai@hcemm.eu](mailto:tibor.pankotai@hcemm.eu) (T. Pankotai).

<sup>1</sup> Equal contributions

<https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2023.12.005>

Received 6 November 2023; Received in revised form 5 December 2023; Accepted 6 December 2023

Available online 19 December 2023

0168-1656/© 2023 The Author(s). Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

## PHD DISSZERTÁCIÓK BEMUTATÁSA ROVAT FELHÍVÁSA

A Biokémia folyóirat szerkesztőbizottságában felmerült, hogy a bárki számára élőben meghallgatható, de korlátozott nyilvánosságú doktori védések és a szintén nem túl széles körben olvasott doktori disszertációk mellett egy tavaly elindított rovat keretében teremtsünk lehetőséget a PhD fokozatukat a biokémia területén frissen megszerző fiatalok számára az eredményeik rövid formában történő bemutatására. Ugyan készül minden értekezés mellé egy téziszfüzet, de úgy gondoljuk, hogy egy pár oldalas, illusztrációkkal ellátott összefoglaló közlésével szélesebb nyilvánossághoz jutnak a tudomány jövőjét képviselő fiataljaink.

Bíztatunk minden, a Biokémia újságot olvasó doktori témavezetőt, hogy kérjék meg doktoranduszaikat, hogy éljenek ezzel a lehetőséggel, és kérjük minden PhD védéshez közeledő doktorandusz olvasónkat, hogy írjanak egy összefoglalót a disszertációjukban bemutatott eredményeikről.

A kéziratokat, a Biokémia újság honlapján (<https://www.mbkegy.hu/apps/mbkegy/pages/index.html#!/ContentById/900>) megtalálható formai követelmények betartásával, az újságban 2022-ben közölt korábbi összefoglalókat mintául véve kérjük elküldeni az alábbi címre:

**Nyitray László**  
**Rovatvezető**  
**e-mail: [nyitray@elte.hu](mailto:nyitray@elte.hu)**

## AZ ARCHEOGENETIKAI MÓDSZERTAN FEJLESZTÉSE KÍSÉRLETES ADATOK FELHASZNÁLÁSÁVAL

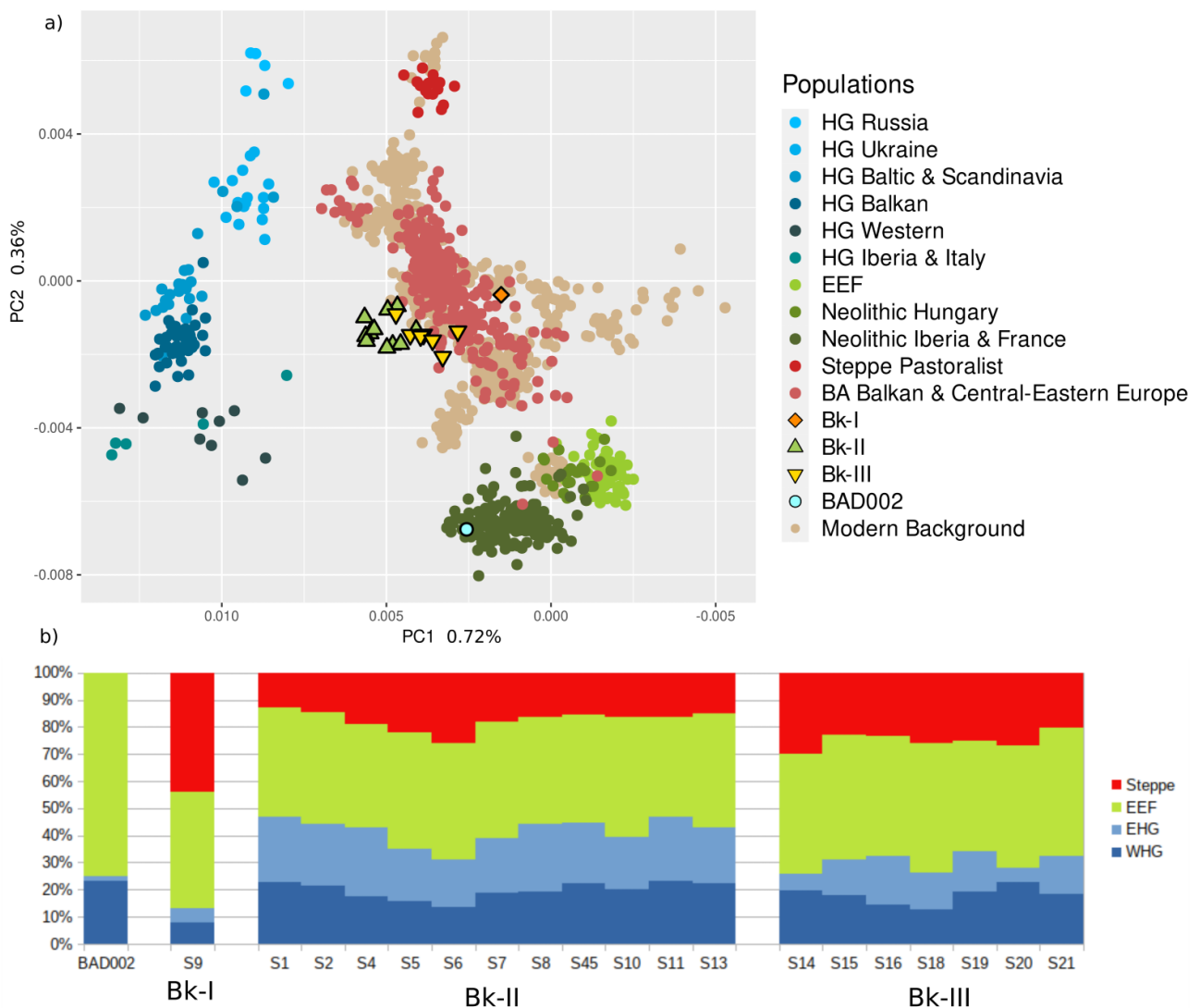
**Gerber Dániel**  
**HUN-REN Magyar Kutatási Hálózat, Bölcsészettudományi**  
**Kutatóközpont, Archeogenomikai Intézet**  
**Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológia Doktori Iskola,**  
**Genetika Doktori Program**  
**E-mail: [Gerber.Daniel@abtk.hu](mailto:Gerber.Daniel@abtk.hu)**

**Témavezetők: Dr. Ari Eszter, Dr. Szécsényi-Nagy Anna**

Az archeogenetika célja az „ősi” örökítőanyagok, azaz olyan organizmusok DNS vagy RNS maradványainak az elemzése, melyek több évtizeddel vagy akár több millió évvel ezelőtt éltek [1-3]. A tudományterület a megalapítása óta eltelt négy évtizedben számos módszertani változáson és szemléletváltáson esett át. A 2010-es évektől az ún. újgenerációs szekvenálási technológiák elterjedésével a kutatás hangsúlya a laboratóriumi munkafolyamatokról az informatikai adatfeldolgozásra helyeződött át. A megnövekedett adatmennyiség és a lehetőségek bővülése a kutatási kérdéseket is drasztikusan átalakította [1]. A fő csapásirány a mai napig populációgenetika, azaz a korabeli populációk időben és térben való monitorozása, de emellett megjelentek az epidemiológiai, evolúciós, sőt, a társadalomtudományi vetületű kutatások is [4-6]. A kutatási irányvonalak és kérdések bővülése számos lehetőséget nyújt a módszertani fejlesztésekhez is. A doktori disszertáció gerincét egy újabbban egyre közkedveltebb ún. interdiszciplináris és mikroregionális transzektnál adta. Ezeknek a kutatásoknak a lényege egy körülhatárolt földrajzi régió populációinak meghatározott időintervallumon átívelő vizsgálata több tudományterület eredményeinek összevetésével, bár az elsődleges hangsúly továbbra is a genetikán van. A kutatás során számos új bioinformatikai módszert fejlesztettem ki, ezeket elsődlegesen az elégtelen DNS megtartásból vagy egyéb okból kifolyóan limitált vizsgálati mélységből fakadó információhiány kiküszöbölésére terveztem meg.

A kutatásban szereplő adatsor zömében a 2003/2004-es M7-es autópályaszerelés során, Balatonkeresztúr szakaszon előkerült, radiokarbon kor meghatározással i.e. 2560-1620, azaz a közép-európai kora- és középső-bronzkorra keltezhető, összesen húsz emberi maradványból állt össze. A csaknem ezer éves időintervallumot három szakaszra lehet felosztani, ezeket időrendi sorrendjük alapján a Bk-I (Somogyvár-Vinkovci kultúra, n=1), Bk-II

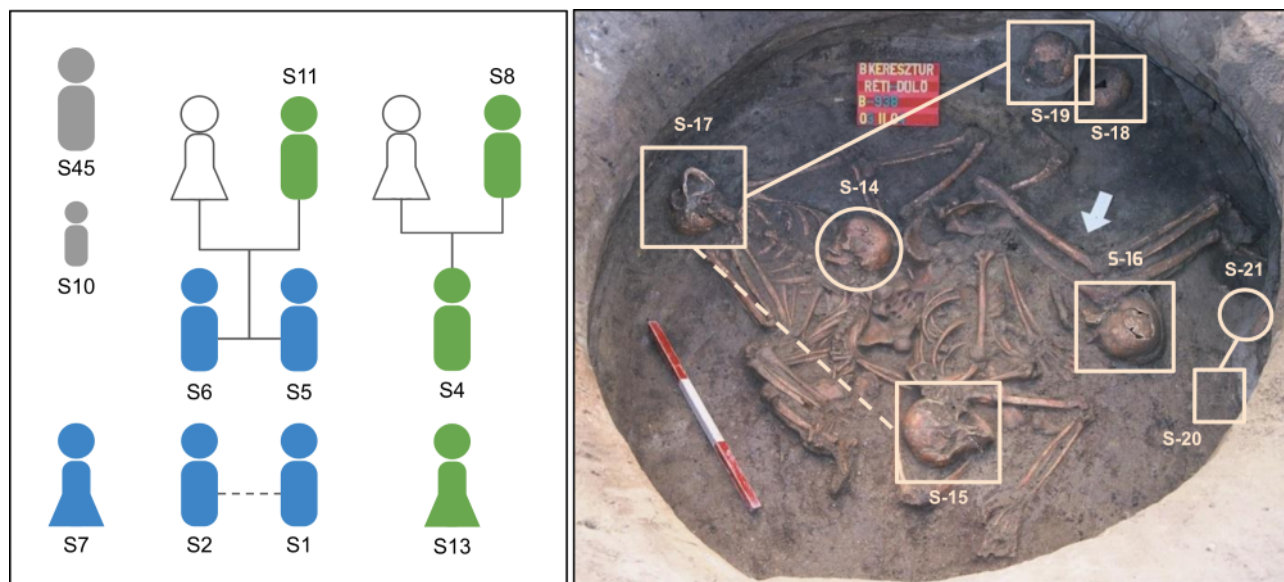
(kisapostagi kultúra, n=11) és Bk-III (mészbetétes edények kultúrája, n=8) nevet kapták.



**1. ábra. A vizsgált csoportok genomi összetétele. a)** ~590k SNP (egyponos nukleotid polimorfizmus) felhasználásával készült teljes genom PCA (főkomponens analízis), ahol egy pont egy egyént jelöl. A HG az európai vadászó-gyűjtögetőket, az EEF a korai európai földműveseket jelöli, illetve piros színnel látható a sztyeppei komponens. A HG és EEF csoportok keveredése hozta létre az újkőkori csoportokat (sötétzöld), majd ezek keveredése a sztyeppei csoportokkal létrehozta a bronzkori (téglaszín) és végső soron a modern európai populációk alapjait (világosbarna). A Bk-II-es csoport jól láthatóan kiszóródik az ismert genetikai varianciából. **b)** Admixture analízis számszerűsíti a főbb genetikai komponenseket (a HG szétbontva keleti (EHG) és nyugati (WHG) alcsoportokra). Bk-I összetétele jól beleilleszkedik a régió átlagos kompozíciójába, míg Bk-II és Bk-III esetén a vadászó-gyűjtögető komponens erős megugrása figyelhető meg.

A kutatás alapvető célkitűzése a populációtörténeti események feltárása volt, de emellett - többek között - genetikai betegségek vizsgálatára is sort kerítettem. A laboratóriumi előkészítés a HUN-REN BTK Archeogenomikai Intézetének archaikus DNS kinyerésére és feldolgozására kialakított helyiségeiben, nemzetközileg elfogadott protokollok alapján történt. A DNS-könyvtárak

shotgun szekvenálását a bioinformatikai adatfeldolgozás követte, ennek része volt a nyers adatok szűrése, szekvenciák illesztése referencia genomra (hg19), majd a biostatistikai és populációgenetikai vizsgálatok elvégzése.



**2. ábra. Rokoni kapcsolatok Balatonkeresztúr lelőhelyen.** Mindkét ábrán az egyenes vonal elsőfokú, a szaggatott vonal másodfokú rokonokat jelöl. Bk-II esetén a 11 elhunyt két sírcsoportba volt eltemetve (kék és zöld színnel jelölt figurák, a szürke színnel a sírcsoportba nem tartozó egyéneket jelöltem). Érdekes megfigyelni, hogy a sírcsoporton belül csak a nők nem rokonai senkinek. Bk-III összes elhunytja egy tömegsírből került elő, a négyzetek férfiakat, a körök nőket jelölnek. Ebben az esetben a strukturáltság kevésbé szembeötlő, ez feltehetően a tömegsír keletkezéseinek körülményeire, legvalószínűbb módon egy helyi járványra vezethető vissza.

A bronzkor időszaka kiemelkedő népességtörténeti szempontból, ugyanis ebben az időszakban alakult ki a modern európaiakra jellemző genetikai összetétel, mely három fő komponensből tevődik össze: a mezolitikus eredetű vadászó-gyűjtögetőkből, az újkőkorból Kis-Ázsiából érkező földművesekből és végül a bronzkor elején a sztyeppéről érkező pásztorokból. Ez utóbbi népességhez köthető az indoeurópai nyelv és kultúra megjelenése Európában [7, 8]. Ennek a három komponensnek a régióként eltérő aránya adja a modern európai populációk genetikai és fenotípusos változatosságát is [7]. A balatonkeresztúri maradványok esetén már mindhárom komponens kimutatható volt, de míg Bk-I általában hasonlított a modern balkáni népcsoportokra, addig Bk-II és annak genetikai és kulturális folytatásaként értelmezhető Bk-III esetén a vadászó-gyűjtögető komponens mind a korszakban, mind a régióban kiugróan magas arányban volt jelen (1. ábra). A kutatás során többek között az  $f_3$ -statisztikára [9] (allélfrekvencia alapú genetikai távolság) épített klaszterező algoritmust felhasználva össze tudtam csoportosítani olyan adatbázisban szereplő mintákat a Bk-II és Bk-III csoportokkal, melyek szintén tartalmazták ezt a jellegzetes

genetikai komponens, ezáltal nyomon tudtam követni térben és időben ennek a populációnak a kapcsolatait. A vizsgálsorozat többek között felfedte Bk-II forrásterületét és ezzel egy (genetikai értelemben) vadászó-gyűjtögető maradványcsoport jelenlétét a kelet-európai régióban, ennek meglétét egy párhuzamos kutatás is igazolta [10].



**3. ábra. Az S13-as kódnevű sírból származó nő rekonstrukciója.** A munka során Jelenának elnevezett, 35-45 éves nő sírjának és arcának rekonstrukciója a genetikai, régészeti és antropológia adatok összevetésével készült el Gerber Fanni, Herceg Zsuzsanna és Kustár Ágnes munkája nyomán.

A biológiai rokonság meghatározása alapvető archaikus adatsorok esetén, ugyanis az allélfrekvencia-alapú vizsgálatokat torzíthatja ezek megléte a vizsgált csoportokban, emellett elengedhetetlen szociális struktúrák feltárásához is. Tekintettel a balatonkeresztúri lelőhely maradványainak átlagosnál rosszabb DNS megtartására, egy saját, extrém alacsony lefedettségére optimalizált rokonság-meghatározó statisztikát terveztem, ennek segítségével tártam fel az első- és másodfokú rokoni kapcsolatokat (2. ábra). Az eredményeket összevetve az antropológiai adatokkal, az Y-kromoszóma és mitokondriális DNS összetétellel, mitokondriális filogenetikai kapcsolatrendszerrel, valamint Bk-II és Bk-III közötti genetikai összetételbeli változással, egy exogám (azaz kívülről házasodó) patrilokális (apai ági folytonosság a lelőhelyen) közösség képe tárult fel.

A ploiditás, azaz a genetikai nem és ezzel együtt az esetleges aneuploidiaák meghatározására szintén egy saját statisztikát vezettem be. Ennek segítségével sikerült detektálni archaikus adatsorokban a legelső Jacobs szindrómás (XYY kariotípusú) egyént. Emellett egy olyan ~5000 SNP-t (egypontos nukleotid polimorfizmus) tartalmazó listát is összeállítottam, amivel feltárhatóvá vált a pigmentáció és genetikailag öröklődő betegségre való hajlam is.

Az eredményeket antropológiai és régészeti adatokkal összevetve LHON (Leber-féle örökletes vakság), autizmus, Lig4 szindróma és HSP (örökletes spasztikus paraplegia) előfordulása valószínűsíthető. Ezen eredményeket felhasználva készülhetett el az első női arcreekonstrukció a magyarországi bronzkorból (3. ábra). Ezek az elemzések alapját képezik további fejlesztéseknek és kutatásoknak, melyek akár a klinikumban is használhatóvá válnak olyan esetekben, ahol igen kevés genetikai információ áll rendelkezésre, pl. anyai vérből származó magzati DNS vizsgálata esetén, de a kapott adatok hosszú távon a genetikai epidemiológiai kutatásokhoz is hozzájárulhatnak.

Az adatsor számítógépes feldolgozásához készítettem egy, a GitHubon szabadon hozzáférhető bioinformatikai programcsomagot (<https://github.com/ArchGenIn/papline>), ez tartalmaz egy automatizált kiértékelő pipeline-t, illetve az itt felsorolt és további statisztikákat elvégző eszközöket is.

### A doktori disszertáció alapját képező publikációk

Gerber, D., Szeifert, B., Székely, O., Egyed, B., Gyuris, B., Giblin, J.I., Horváth, A., Köhler, K., Kulcsár, G., et al. (2023) Interdisciplinary analyses of Bronze Age communities from Western Hungary reveal complex population histories. *Molecular Biology and Evolution*, **40(9)**: msad182.

Librado, P., Khan, N., Fages, A., Kusliy, M.A., Suchan, T., Tonasso-Calvière, L., Schiavianto, S., Alioglu, D., Fromentier, A., ..., Gerber, D., ..., Orlando, L. (2021) The origins and spread of domestic horses from the Western Eurasian steppes. *Nature*, **598**: 634–640.

Csáky, V., Gerber, D., Szeifert, B., Egyed, B., Stégmár, B., Botalov, S.G., Grudochko, I.V., Matveeva, N.P., Zelenkov, A.S., et al. (2020) Early medieval genetic data from Ural region evaluated in the light of archaeological evidence of ancient Hungarians. *Sci Rep*, **10**: 19137.

**Irodalomjegyzék**

- [1] Orlando, L., Allaby, R., Skoglund, P., Der Sarkissian, C., Stockhammer, P.W., Ávila-Arcos, M.C., Fu, Q., Krause, J., Villerslev, E., *et al.* (2021) Ancient DNA analysis. *Nat Rev Methods Primer*, **1**: 14.
- [2] Mármol-Sánchez, E., Fromm, B., Oskolkov, N., Pochon, Z., Kalogeropoulos, P., Eriksson, E., Biryukova, I., Sekar, V., Ersmark, E., *et al.* (2023) Historical RNA expression profiles from the extinct Tasmanian tiger. *Genome Res*, **33**: 1299–1316.
- [3] Kjær, K.H., Pedersen, M.W., De Sanctis, B., De Cahsan, B., Korneliussen, T.S., Michelsen, C.S., Sand, K.K., Jelavic, S., Ruter, A.H., *et al.* (2022) A 2-million-year-old ecosystem in Greenland uncovered by environmental DNA. *Nature*, **612**: 283–291.
- [4] Spyrou, M. A., Bos, K.I., Herbig, A., Krause, J. (2019) Ancient pathogen genomics as an emerging tool for infectious disease research. *Nat Rev Genet*, **20**: 323–340.
- [5] Childebayeva, A., Rohrlach, A.B., Barquera, R., Rivollat, M., Aron, F., Szolek, A., Kohlbacher, O., Nicklisch, N., Alt, K.W., *et al.* Population Genetics and Signatures of Selection in Early Neolithic European Farmers. (2022) *Mol Biol Evol*, **39**: msac108.
- [6] Rivollat, M., Thomas, A., Ghesquiére, E., Rohrlach, A.B., Späth, E., Pemonge, M.H., Haak, W., Chambon, P., Deguilloux, M.F. Ancient DNA gives new insights into a Norman Neolithic monumental cemetery dedicated to male elites. (2022) *Proc. Natl. Acad. Sci U S A*, **119**: e2120786119.
- [7] Lazaridis, I., Patterson, N., Mittnik, A., Renaud, G., Mallick, S., Kisanow, K., Sudmant, P.H., Schraiber, J.G., Castellano, S., *et al.* Ancient human genomes suggest three ancestral populations for present-day Europeans. (2014) *Nature*, **513**: 409–413.
- [8] Haak, W., Lazaridis, I., Patterson, N., Rohland, N., Mallick, S., Llamas, B., Brandt, G., Nordenfelt, S., Harney, E., *et al.* (2015) Massive migration from the steppe was a source for Indo-European languages in Europe. *Nature*, **522**: 207–211.
- [9] Patterson, N., Moorjani, P., Luo, Y., Mallick, S., Rohland, N., Zhan, Y., Genschoreck, T., Webster, T., Reich, D. (2012) Ancient Admixture in Human History. *Genetics*, **192**: 1065–1093.
- [10] Chyleński, M., Makarowicz, P., Juras, A., Krzewinska, M., Pospieszny, L., Ehler, E., Bieszka, A., Górski, J., Taras, H., *et al.* (2023) Patrilocality and hunter-gatherer-related ancestry of populations in East-Central Europe during the Middle Bronze Age. *Nat Commun*, **14**: 4395.

## AKTÍV ÉS DOMESZTIKÁLT PIGGYBAÇ TRANSZPOZÁZOK FUNKCIONÁLIS VIZSGÁLATA

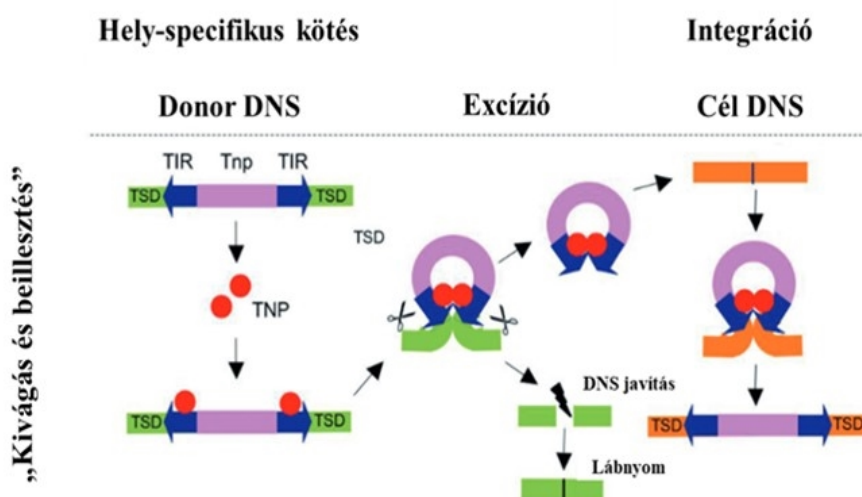
Wachtl Gerda Gabriella

HUN-REN Természettudományi Kutatóközpont, Enzimológiai Intézet  
Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológia Doktori Iskola,  
Genetika Program

e-mail: [gerda.wachtl@gmail.com](mailto:gerda.wachtl@gmail.com)

Témavezető: Dr. Orbán Tamás

A humán genom közel 50%-át ún. „ugráló gének”, vagyis transzpozonok alkotják. Ezek olyan mobilis genetikai elemek, amelyek képesek a genomon belül történő helyváltoztatásra, amely folyamatot transzpozíciónak nevezzük. A DNS transzpozonok többségénél ez a nem-replikatív „kivágás és beillesztés” mechanizmus mentén történik, amelynek során csak DNS köztes termék keletkezik (1. ábra)[1].



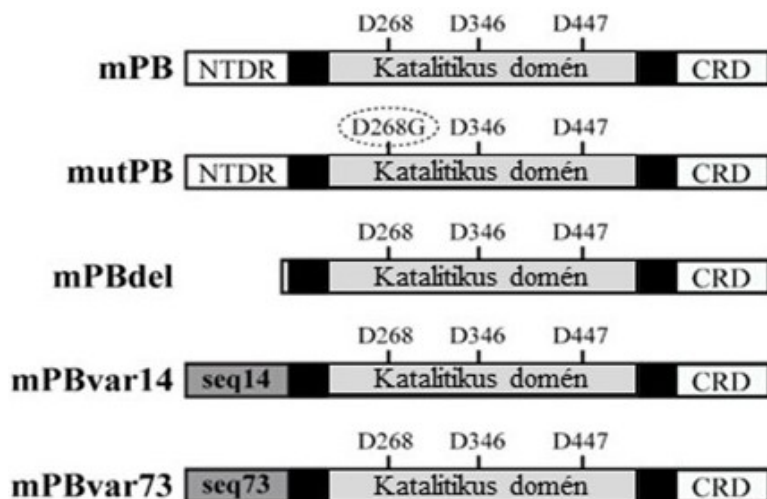
**1. ábra. A klasszikus DNS transzpozonok „kivágás és beillesztés” mechanizmusa.** TSD: célhely (target site) duplikáció; TIR: terminálisan invertált ismétlés; Tnp/TNP: transzpozáz gén/fehérje (Sinzelle és mtsai. [3] nyomán módosítva).

Mobilizációs mechanizmusukat kihasználva bizonyos DNS transzpozonok közkedvelt genetikai eszközökké váltak génbeviteli eljárások és génterápiás alkalmazások során, ezért különösen fontossá vált szerkezetüknek, valamint struktúra-funkció összefüggéseiknek jobb megismerése és megértése.

A transzpozonok terjedésükkel jelentős károkat képesek okozni a gazdag genomokban, amellyel hozzájárulhatnak különböző humán betegségek kialakulásához, negatív hatásai mellett viszont jelentős szerepet játszanak a

genomok alakításában, a molekuláris evolúció folyamatain keresztül pedig akár új fajok létrejöttében is [2]. Számos példa ismert arra, hogy a transzpozonok mutációk következtében elveszítik transzpozíciós képességüket, ugyanakkor egy új, a gazdaszervezet számára hasznos funkciót nyernek. Ezt a folyamatot nevezzük transzpozon domesztikációnak, amelyre az egyik legismertebb példa a T-sejt receptorok és az immunoglobulinok sokféleségének kialakításában szerepet játszó humán RAG rekombináz fehérjék esete, az általuk indukált V(D)J rekombináció és a „kivágás és beillesztés” mechanizmus között ugyanis funkcionális homológia figyelhető meg [3].

Az egyik leggyakrabban alkalmazott DNS transzpozáz, a vándor aranybagoly (*Trichoplusia ni*) lepkéből izolált *piggyBac* (PB) fehérje pontos, ún. „lábnyom” nélküli kivágást hajt végre, ezért transzpozíciója során a donor szekvencia javításához nincs szükség további DNS szintézisre [4]. Szerkezetéről napjainkra sok adat vált elérhetővé, azonban az egyes szerkezeti egységek pontos funkciója jelenleg ismeretlen. Ezen túlmenően megtalálható a humán genomban öt, a domesztikáltság jeleit mutató PB-eredetű szekvencia (*piggyBac transposable element derived proteins*, PGBD1-5 elemek), amelyekkel lehetséges keresztreaktivitása nem tisztázott [5-7]. PhD kutatómunkám céljaként így a *piggyBac* transzpozáz N-terminális rendezetlen régió (*N-Terminal Disordered Region*, NTDR) transzpozícióban betöltött szerepének és a humán PGBD elemek aktivitásának, illetve ennek hiányában a potenciális funkcióiknak a vizsgálatát tűztük ki, különös tekintettel a PGBD1 elemre.



**2. ábra. A létrehozott mPB fehérje variánsok sematikus ábrázolása.** A katalitikus doménon belül jelöltük a három kitüntetett aszparaginsavat (D), melyből az elsőt a katalitikus mutáns mutPB-ben glicinre módosítottuk (D268G). Az mPBdel esetében a rendezetlennek prediktált első 100 aminosavat (NTDR) deletáltuk a szekvenciából. A „dimerizációs és DNS-kötő domén” két szegmense feketével van jelölve. NTDR: N-terminális rendezetlen régió, CRD: ciszteinben gazdag domén, seq14/seq73: két különböző randomizált fehérje szekvencia, melyek az eredeti N-terminális régióhoz hasonló rendezetlenségi paraméterekkel rendelkeznek.

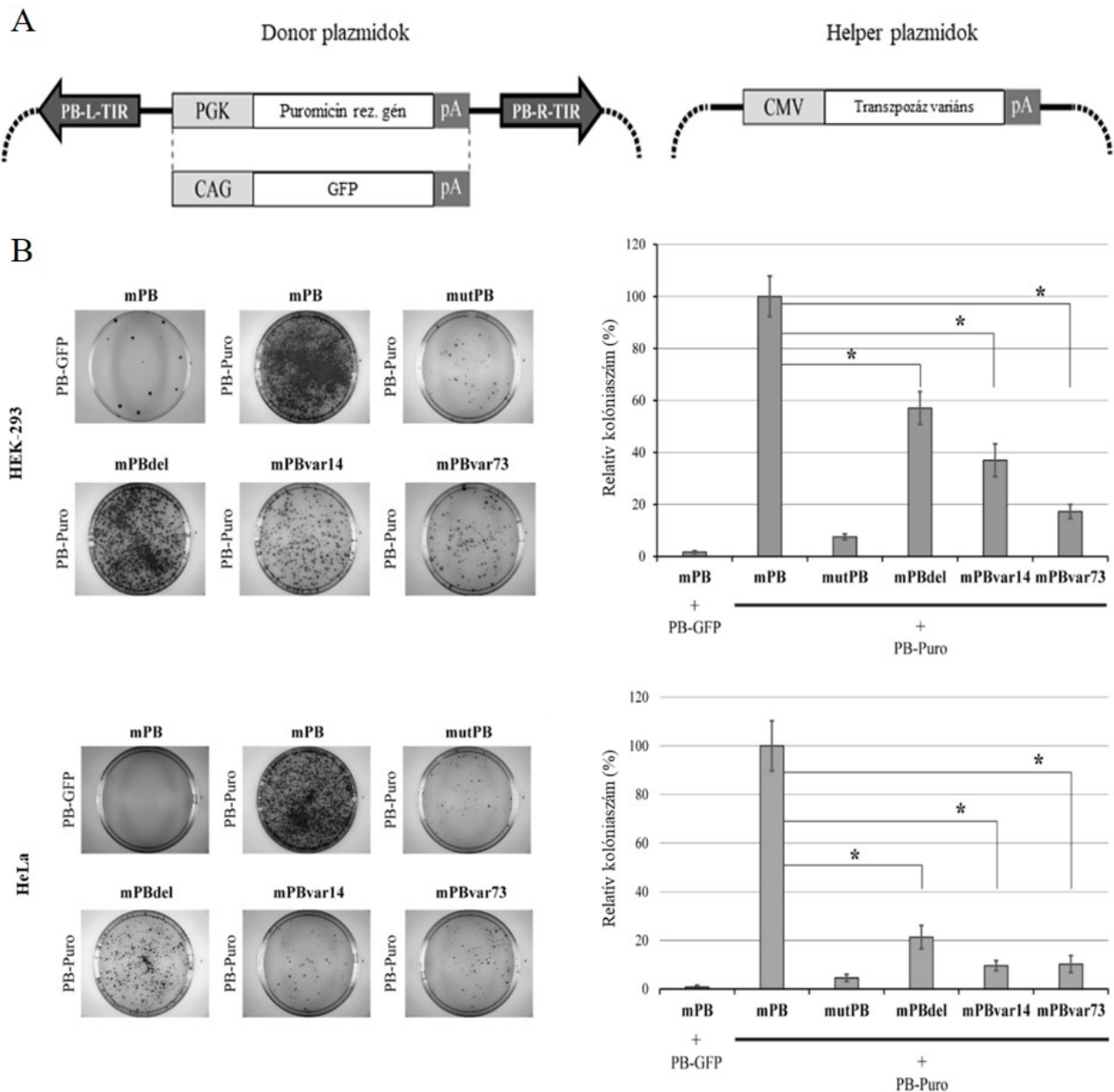
A *piggyBac* transzpozáz NTDR szerepének humán sejtvonalakban (HEK-293, HeLa, MCF-7) történő vizsgálatához az emlős sejtekben történő vizsgálatra alkalmas, emlős kodonoptimalizált vad típusú *piggyBac* (*mammalian piggyBac*, mPB) transzpozázt alkalmaztuk, valamint létrehoztuk különféle fehérje variánsait (2. ábra). Kísérleteinket elvégeztük a hiperaktív mutáns *piggyBac* fehérje (*hyperactive piggyBac*, hyPB) és az általunk létrehozott variánsai esetében is, ezek az adatok azonban itt nem kerülnek közlésre.

A transzpozíciós aktivitást két ponton tudjuk detektálni, a kivágás (excízió) és a beépülés (integráció) szintjén, amelyeket excíziós és kolónia esszék segítségével vizsgáltunk. Ehhez a sejteket egy két-komponensű vektor rendszerrel transzfektáltuk, amelyben a helper plazmid a tesztelendő transzpozáz/fehérje variánst, a donor konstrukció pedig a puromicin rezisztencia gént tartalmazta a transzpozáz által felismert szekvenciák (terminális *inverted repeat*-ek), vagyis a szubsztrátjai által határolva (3.A ábra). Az excíziós PCR reakció során megállapíthatjuk, hogy megtörtént-e a rezisztencia gén kivágása, a sejteket két hétig tartó puromicin szelekciónak kitéve pedig az életben maradt sejt kolóniák megszámlálásával megbecsülhető a sejtek genomjába történő integráció hatékonysága.

Eredményeink arra utalnak, hogy az NTDR hiányában az excízió végbemegy, tehát az NTDR jelenléte nem esszenciális a transzpozícióhoz, ugyanakkor a transzpozíciós ráta sejtvonalfüggő csökkenését figyeltük meg. Az eredeti transzpozíciós hatékonyságot a randomizált szekvenciákkal történő helyettesítés (mPBvar14/73) nem állította vissza, a legtöbb esetben inkább további romlást eredményezett (3.B ábra).

További kísérletekben egy specifikus HeLa riporter-sejt vonalat használtunk a kivágódás és a beépülés elkülönített vizsgálatára, amelynek genomja egy kópiában tartalmaz egy olyan konstrukciót, melyben a puromicin rezisztencia gén egy, a *piggyBac* transzpozon által hordozott neomicin rezisztencia gén kazetta által van megszakítva. Amennyiben aktív transzpozáz kerül a rendszerbe, a transzpozon kivágódik a genomból, ezáltal helyreállítva a puromicin rezisztencia gént, a neomicin rezisztencia gén pedig integrálódik a genomba, így puromicin (excízió), illetve puromicin-neomicin kettős szelekció (integráció) alkalmazásával megbecsülhető a kivágódás és a beépülés hatékonysága egymástól függetlenül. Ebben a rendszerben bizonyítottuk, hogy az NTDR hiánya erősebb hatást gyakorol a transzpozíció excíziós lépésére az

integrációval szemben, azonban valószínűleg ez nem a kivágás pontosságának a romlásából adódik.



### 3. ábra. A piggyBac transzpozáz variánsok transzpozíciós aktivitásának detektálása.

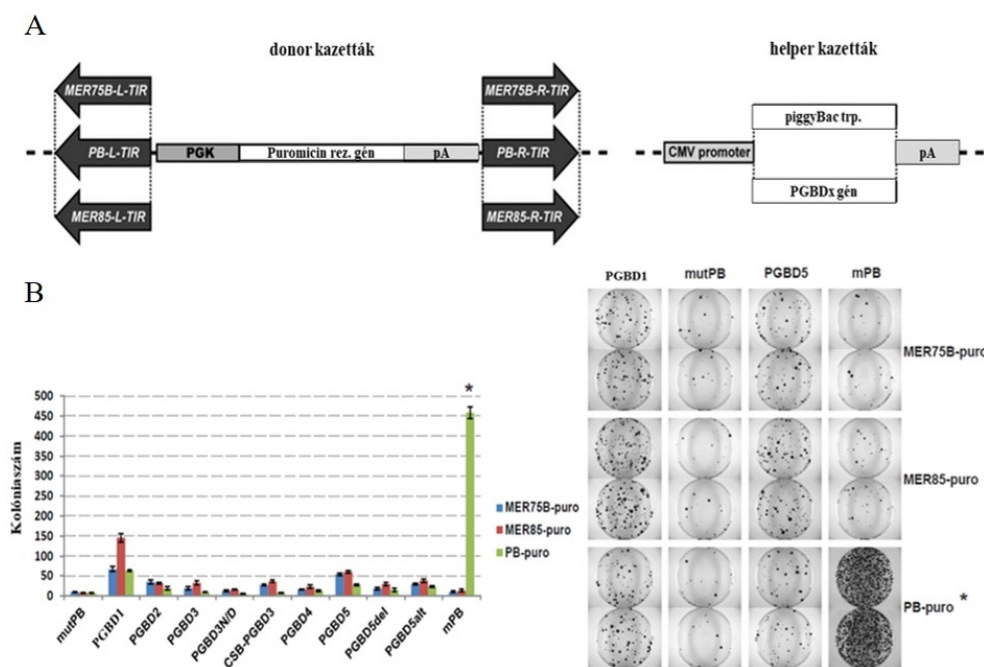
**A)** A piggyBac transzpozáz NTDR-jének vizsgálatára szolgáló transzpozíciós eszközök használt donor és helper plazmidok sematikus ábrázolása. PB-L-TIR/PB-R-TIR: piggyBac bal/jobb terminális inverted repeat szekvenciák; PGK: foszfoglicerát kináz promóter; CMV: cytomegalovírus promóter; pA: poliadenilációs szignál. **B)** Az mPB variánsok transzpozíciós rátája HEK-293 és HeLa sejtvonalban. A puromicin szelekciót túlélő festett sejtkolóniák reprezentatív képei (bal), az elvégzett kolónia esszék összesített kvantifikációját ábrázoló grafikonok (jobb). Az értékek az 'mPB+PB-Puro' pozitív kontroll reakcióhoz, mint 100%-hoz viszonyítva vannak megadva, negatív kontrollként pedig a katalitikus mutáns mutPB-t használtuk. Az átlagolt értékeket minden esetben minimum 3 független biológiai kísérletről számítottuk (HEK-293  $n=4$ , HeLa  $n=6$ ), a hibásávok a standard deviációt jelölik. \*:  $p < 0.05$ .

Vizsgálataink alapján az N-terminális rendezetlen régió szerepéről azt gondoljuk, hogy molekuláris interakciókon keresztül valószínűleg moduláló,

„finomhangoló” szerepet lát el a transzpozíció szabályozásában. Továbbá bioinformatikai analízis segítségével igazoltuk, hogy az NTDR jelenléte egy általánosan előforduló tulajdonság a *piggyBac* szupercsalád tagjainak körében, míg egyéb vizsgált DNS transzpozonok esetében ez nem mondható el.

Az öt humán PGBD elem összehasonlító evolúciós elemzésének során megállapítottuk, hogy erős stabilizáló szelekciós nyomás alatt állnak, és közülük a PGBD5 tűnik a legősibbnek. Egyik fehérje transzpozíciós aktivitása sem volt detektálható: a rovar *piggyBac* szubsztrát (PB) mellett a humán genomban kódolt MER75B és MER85 elemeket sem voltak képesek mobilizálni, mely utóbbiak az ősi PGBD4 és a PGBD3 feltételezett szubsztrátjai (4. ábra).

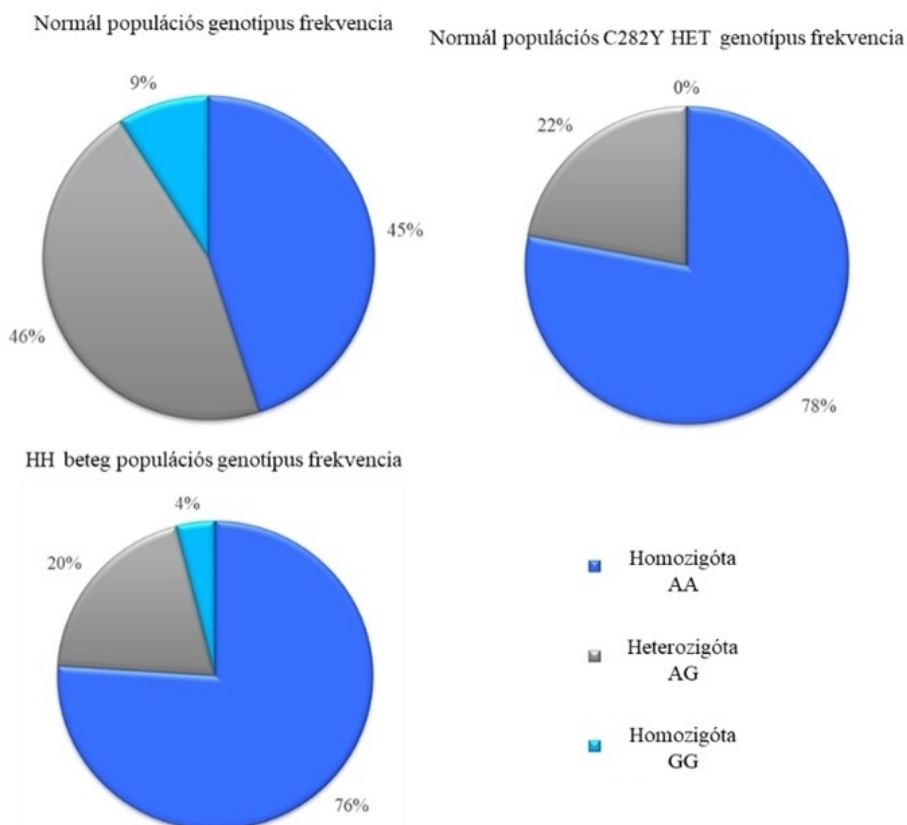
Teszteltük továbbá a PGBD elemek hipoxiás, oxidatív, valamint UV stressz hatásokra történő expressziójának változását, a válasz azonban nem volt egységes, ezért úgy gondoljuk, hogy egymástól eltérő biológiai folyamatokban látják el domesztikált funkciójukat.



**4. ábra. A humán PGBD elemek aktivitásának vizsgálata. A)** A tesztelt transzpozon konstrukciók struktúrájának sematikus ábrázolása. Három transzpozon donort teszteltünk (MER75B, MER85 és PB), melyek mindegyike hordozza a puromicin rezisztencia gént, csupán a terminális inverted repeat (TIR) szekvenciákban különböznek. A tesztelt helper kazetták a *piggyBac* transzpozánt (*trp.*), vagy az egyes PGBD-eket tartalmazzák. L-TIR: bal-TIR, R-TIR: jobb-TIR, PGK: foszfogllicerát kináz promóter, CMV: cytomegalovírus promóter, pA: poliadenilációs szignál. **B)** A PGBD elemekkel elvégzett kolónia esszék eredménye HEK-293 sejtekben. A kolónia esszék kvantifikációját ábrázoló grafikon (bal). A puromicin szelekciót túlélő festett sejt kolóniák reprezentatív képei két technikai párhuzammal (jobb). \*: a pozitív kontrollként szolgáló 'mPB+PB-Puro' konstrukcióval történt kísérlet. A PGBD1 kapcsán a MER85 szubsztrát esetében tapasztalt emelkedés nem a transzpozícióból adódik, ugyanis transzpozonos excíziót ugyanitt nem detektáltunk (az adatok itt nem kerülnek bemutatásra).

Ezt követően PhD kutatómunkám kereteiben a humán transzpozáz eredetű PGBD elemek közül a PGBD1 domesztikált funkcióinak felderítésére fókuszáltunk. Korábbi predikciók alapján vizsgáltuk, azonban eredményeinkből következtetve úgy találtuk, hogy a kísérleti rendszerünkben a PGBD1 nem vesz részt sem a *splicing*, sem pedig az alternatív *splicing* folyamatának szabályozásában. Ugyanakkor kollaborációs partnereink a közös munka folyamánként igazolták, hogy a humán PGBD1 fehérje a NEAT-1 hosszú nem kódoló RNS transzkripcionális szabályozásán keresztül fontos szerepet tölt be a sejtmagi, úgynevezett „*paraspeckle*” struktúra kialakulásában és stabilitásában, ezáltal hozzájárulva a neuronális progenitor sejtek proliferatív státuszban tartásához az idegrendszer korai fejlődésének során.

Korábbi genetikai adatok alapján, egy másik kutatási irányt követve vizsgáltuk a PGBD1 szerepét a haemochromatózishoz nevezett, a HFE gén C282Y mutációjának következtében kialakuló vas-metabolizmus zavarral járó betegséggel kapcsolatban.



**5. ábra. A PGBD1 érintett SNP-jének (rs1997660) genotípus frekvenciája a magyar haemochromatózis beteg és normál kontroll populációban.** Genotípus frekvencia eloszlás a normál populációs mintákban (balra fent). Genotípus frekvencia eloszlás a beteg populációs mintákban (balra lent). Genotípus frekvencia eloszlás a normál populáció azon mintáinak csoportjában, melyek a homozigóta formában betegséget okozó HFE C282Y mutációra heterozigóták (C282Y HET) (jobbra).

A 6-os kromoszómán, a fő hisztokompatibilitási komplex I-es régióban a PGBD1 lokusz körül található egy részleges haplotípus, amely összefüggésben lehet a betegség tüneteinek súlyosságával. Ezt a mikrohaplotípust a PGBD1 (rs1997660), a ZNF165 (rs7206) és a ZNF193 (rs203878) gének által hordozott három SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) alkotja, melyek közül az A-A-T a betegség komolyabb, a G-G-G allélkombináció pedig az enyhébb lefolyásával asszociált [8]. Ezek alapján az Országos Vérellátó Intézet által rendelkezésünkre bocsájtott 76 beteg és 281 normál populációs DNS mintát genotipizáltuk a PGBD1 érintett SNP-jére nézve, ezt követően pedig meghatároztuk a magyar populációban előforduló allél-, illetve genotípus frekvenciákat, amelyek összevethetők az 1000 genom projekt vonatkozó adataival (5. ábra). Eredményeink azt sugallják, hogy a PGBD1 SNP A allélja és a betegség közötti kapcsolat jelen van a magyar populációban, azonban valószínűleg a beteg populációs mintákhoz tartozó klinikai adatok csekély esetszámának következtében a tünetek súlyosságával nem tudtunk kimutatni szignifikáns összefüggést.

PhD munkám során tehát többek között megállapítottuk, hogy a *piggyBac* transzpozáz N-terminális régiójának rendezetlensége általánosan előforduló jelenség a *piggyBac* szupercsaládban. Jelenléte nem esszenciális a transzpozícióhoz, azonban valószínűsíthetően moduláló szerepet tölt be a folyamat excíziós lépésében, ugyanis hiányában a transzpozíciós ráta jelentős csökkenését figyeltük meg. Úgy találtuk, hogy az öt humán PGBD fehérje közül egyik sem mutat transzpozíciós aktivitást, azonban domesztikált funkcióik feltárásához további vizsgálatok szükségesek. A PGBD1 esetében megmutattuk, hogy nem vesz részt sem a *splicing*, sem pedig az alternatív *splicing* folyamatának szabályozásában, viszont fontos szerepet tölt be a sejtmagi „*paraspeckle*” struktúra kialakításában. Továbbá találtunk összefüggést a PGBD1 SNP-je és a haemochromatózis betegség között a magyar betegpopulációban, a tünetek súlyosságával történő kapcsolat kimutatásához viszont több kapcsolódó klinikai adatra volna szükség.

### A doktori dolgozat alapjául szolgáló publikációk

Kolacsek, O., Wachtl, G., Fóthi, Á., Schamberger, A., Sándor, S., Pergel, E., Varga, N., Raskó, T., Izsvák, Z., Apáti, A., Orbán, T.I. (2022) Functional indications for transposase domestications – Characterization of the human *piggyBac* transposase derived (PGBD) activities. *Gene*, **834**: 146609.

Raskó, T., Pande, A., Radscheit, K., Zink, A., Singh, M., Sommer, C., Wachtl, G., Kolacsek, O., Inak, G., Szvetnik, A., Petrakis, S., Bunse, M., Bansal, V., Selbach, M., Orbán, T.I., Prigione, A., Hurst, L.D., Izsvák, Z. (2022) A novel gene controls a new structure: PiggyBac Transposable Element-derived 1, unique to mammals, controls mammal-specific neuronal paraspeckles. *Molecular Biology and Evolution*, **39(10)**: msac175.

Wachtl, G., Schád, É., Huszár, K., Palazzo, A., Ivics, Z., Tantos, Á., Orbán, T.I. (2022) Functional Characterization of the N-Terminal Disordered Region of the *piggyBac* Transposase. *International Journal of Molecular Sciences*, **23**: 10317.

### Irodalomjegyzék

- [1] Kidwell, M.G., Lisch, D. (1997) Transposable elements as sources of variation in animals and plants. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **94**: 704–7711.
- [2] Rebollo, R., Horard, B., Hubert, B., Vieira C. (2010) Jumping genes and epigenetics: Towards new species. *Gene*, **454**: 1-7.
- [3] Sinzelle, L., Izsvák, Z., Ivics, Z. (2009) Molecular domestication of transposable elements: from detrimental parasites to useful host genes. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **66**: 1073-1093.
- [4] Mitra, R., Fain-Thornton, J., Craig, N.L. (2008) *PiggyBac* can bypass DNA synthesis during cut and paste transposition. *The EMBO Journal*, **27(7)**: 1097-109.
- [5] Mandal, P.K., Kazazian Jr., H.H. (2008) SnapShot: Vertebrate transposons. *Cell*, **135**: 192–192 e1.
- [6] Helou, L., Beauclair, L., Dardente, H., Piegu, B., Tsakou-Ngouafo, L., Lecomte, T., Kentsis, A., Pontarotti, P., Bigot, Y. (2021) The piggyBac-derived protein 5 (PGBD5) transposes both the closely and the distantly related piggyBac-like elements Tcr-pble and Ifp2. *Journal of Molecular Biology*, **433**: 166839.
- [7] Henssen, A. G., Henaff, E., Jiang, E., Eisenberg, A.R., Carson, J.R., Villasante, C.M., Ray, M., Still, E., Burns, M., Gandara, J., Feschotte, C., Mason, C.E., Kentsis, A. (2015) Genomic DNA transposition induced by human PGBD5. *eLife*, **4**: e10565.
- [8] Costa, M., Cruz, E., Barton, J.C., Thorstensen, K., Morais, S., da Silva, B. M., Pinto, J.P., Vieira, C.P., Vieira, J., Acton, R.T., Porto G. (2013) Effects of Highly Conserved Major Histocompatibility Complex (MHC) Extended Haplotypes on Iron and Low CD8+ T Lymphocyte Phenotypes in *HFE* C282Y

Homozygous Hemochromatosis Patients from Three Geographically Distant Areas. *PLoS ONE*, **8(11)**: e79990.

**KIEMELKEDŐ KÖZLEMÉNYEK 2023.  
IF>8**

Apjok, G., Számel, M, Christodoulou, C., Seregi, V., Vásárhelyi, B.M., Stirling, T., Eszenyi, B., Sári, T., Vidovics, F., Nagrand, E., Kovács, D., Szili, P., Lantos, I.I., Méhi, O., Jangir, P.K., Herczeg, R., Gálik, B., Urbán, P., Gyenesei, A., Draskovits, G., Nyerges, Á., Fekete, G., Bodai, L., Zsindely, N., Dénes, B., Yosef, I., Qimron, U., Papp, B., Pál, C., Kintses, B. (2023) Characterization of antibiotic resistomes by reprogrammed bacteriophage-enabled functional metagenomics in clinical strains. *Nat Microbiol*, 8(3):410-423. IF: 28.3

Bukva, M., Dobra, G., Gyukity-Sebestyén, E., Böröczky, T., Korsós, M.M., Meckes, D.G. Jr, Horváth, P., Buzás, K., Harmati, M. (2023). Machine learning-based analysis of cancer cell-derived vesicular proteins revealed significant tumor-specificity and predictive potential of extracellular vesicles for cell invasion and proliferation – A meta-analysis. *Cell Commun Signal*, 21(1):333. IF: 8.4

Correia-Melo, C., Kamrad, S., Tengölics, R., Messner, C.B., Trebulle, P., Townsend, S., Varma, S.J., Freiwald, A., Heineike, B.M., Campbell, K., Herrera-Dominguez, L., Aulakh, S.K., Szyrwił, L., Yu, J.S.L., Zelezniak, A., Demichev, V., Müllleder, M., Papp, B., Alam, M.T., Ralser, M. (2023) Cell-cell metabolite exchange creates a pro-survival metabolic environment that extends lifespan. *Cell*, 186(1):63–79. IF: 64.5

Dániel, B., Belk, J., Meier, S., Chen, A., Sándor, K., Czimmerer, Z., Varga, Z., Bene, K., Buquicchio, F., Qi, Y., Kitano, H., Wheeler, J., Foster, D., Januszyk, M., Longaker, M., Chang, H., Satpathy, A. (2023) Macrophage inflammatory and regenerative response periodicity is programmed by cell cycle and chromatin state. *Mol Cell*, 83 (1):121-138. IF: 16

Datki, Z., Darula, Z., Vedelek, V., Hunyadi-Gulyas, E., Dingmann, B.J., Vedelek, B., Kalman, J., Urban, P., Gyenesei, A., Galik-Olah, Z., Galik, B., Sinka, R. (2023) Biofilm formation initiating rotifer-specific biopolymer and its predicted components. *Int J Biol Macromol*, 253(Pt 5):127157. IF: 8.2

Dull, K., Lénárt, K., Dajnoki, Z., Póliska, S., Uchiyama, E., Hendrik, Z., Szegedi, A., Töröcsik, D. (2023) Barrier function-related genes and proteins have an altered expression in acne-involved skin. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 37

(7):1415-1425. IF: 9.2

Feró, O., Karányi, Z., Nagy, É., Mosolygó, Á., Szaker, H., Csorba, T., Székvölgyi, L. (2023) Coding and noncoding transcriptomes of NODULIN HOMEBOX (NDX)-deficient Arabidopsis inflorescence. *Sci Data*, 10(1):364. IF: 9.8

Gál, L., Bellák, T., Marton, A., Fekécs, Z., Weissman, D., Török, D., Biju, R., Vizler, C., Kristóf, R., Beattie, M.B., Lin, P.J.C., Pardi, N., Nógrádi, A., Pajer, K. (2023) Restoration of Motor Function through Delayed Intraspinal Delivery of Human IL-10-Encoding Nucleoside-Modified mRNA after Spinal Cord Injury. *Research (Wash D C)*, 2023:6:0056. IF: 11

Gerber, D., Szeifert, B., Székely, O., Egyed, B., Gyuris, B., Giblin, J.I., Horváth, A., Köhler, K., Kulcsár, G., Kustár, Á., Major, I., Molnár, M., Palcsu, L., Szeverényi, V., Fábrián, S., Mende, B.G., Bondár, M., Ari, E., Kiss, V., Szécsényi-Nagy, A. (2023) Interdisciplinary analyses of Bronze Age communities from Western Hungary reveal complex population histories. *Mol Biol Evol*, 40(9):msad182. IF: 10.7

Gönczi, M., Teixeira, J., Barrera-Vilarmau, S., Mediani, L., Antoniani, F., Nagy, T., Fehér, K., Ráduly, Z., Ambrus, V., Tózsér, J., Barta, E., Kövér, K., Csernoch, L., Carra, S., Fuxreiter, M. (2023) Alternatively spliced exon regulates context-dependent MEF2D higher-order assembly during myogenesis. *Nat Commun*, 14(1):1329. IF: 16.6

Grézal, G., Spohn, R., Méhi, O., Dunai, A., Lázár, V., Bálint, B., Nagy, I., Pál, C., Papp, B. (2023) Plasticity and stereotypic rewiring of the transcriptome upon bacterial evolution of antibiotic resistance. *Mol Biol Evol*, 40(2):msad020. IF: 10.7

Gruper, Y., Wolff, A., Glanz, L., Spoutil, F., Marthinussen, M., Osičková, A., Herzig, Y., Goldfarb, Y., Aranaz-Novaliches, G., Dobeš, J., Kadouri, N., Ben-Nun, O., Binyamin, A., Lavi, B., Givony, T., Khalaila, R., Gome, T., Wald, T., Mrazkova, B., Sochen, C., Besnard, M., Ben-Dor, S., Feldmesser, E., Orlova, E., Hegedűs, C., Lampé, I., Papp, T., Felszeghy, S., Sedlacek, R., Davidovich, E., Tal, N., Shouval, D., Shamir, R., Guillonneau, C., Szondy, Z., Lundin, K., Osička, R., Prochazka, J., Husebye, E., Abramson, J. (2023) APS-1 and celiac patients reveal autoimmune amelogenesis imperfecta. *Nature*, 624(7992):653-662. IF: 64.8

Huang, Z., Gu, C., Zhang, Z., Arianti, R., Swaminathan, A., Tran, K., Battist, A., Kristóf, E., Ruan, H. (2023) Supraclavicular brown adipocytes originate from Tbx1+ myoprogenitors. *PLoS Biol*, 21(12):e3002413. IF: 9.8

Huszár, K., Welker, Z., Györgypál, Z., Tóth, E., Ligeti, Z., Kulcsár, P.I., Dancsó, J., Tálás, A., Krausz, S.L., Varga, É., Welker, E. (2023) Position-dependent sequence motif preferences of SpCas9 are largely determined by scaffold-complementary spacer motifs. *Nucleic Acids Res*, 51(11):5847-5863. IF: 14.9

Jambrovics, K., Botó, P., Pap, A., Sarang, Z., Kolostyák, Z., Czimmerer, Z., Szatmári, I., Fésüs, L., Uray, I., Balajthy, Z. (2023) Transglutaminase 2 associated with PI3K and PTEN in a membrane-bound signalosome platform blunts cell death. *Cell Death Dis*, 14(3):217. IF: 9

Kulcsár, P.I., Tálás, A., Ligeti, Z., Tóth, E., Rakvács, Z., Bartos, Z., Krausz, S.L., Welker, Á., Végi, V.L., Huszár, K., Welker, E. (2023) A cleavage rule for selection of increased-fidelity SpCas9 variants with high efficiency and no detectable off-targets. *Nat Commun*, 14(1):5746. IF: 16.6

Liska, O., Boross, G., Rocabert, C., Szappanos, B., Tengölics, R., Papp, B. (2023) Principles of metabolome conservation in animals. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 120(35):e2302147120. IF: 11.1

Merényi, Z., Krizsán, K., Sahu, N., Liu, X.B., Bálint, B., Stajich, J.E., Spatafora, J.W., Nagy, L.G. (2023) Genomes of fungi and relatives reveal delayed loss of ancestral gene families and evolution of key fungal traits. *Nat Ecol Evol*, 7(8):1221-1231. IF: 16.8

Moshkov, N., Becker, T., Yang, K., Horvath, P., Dancik, V., Wagner, B.K., Clemons, P.A., Singh, S., Carpenter, A.E., Caicedo, J.C. (2023) Predicting compound activity from phenotypic profiles and chemical structures. *Nat Commun*, 14(1):1967. IF: 16.6

Nagy, L.G., Vonk, P.J., Künzler, M., Földi, C., Virágh, M., Ohm, R.A., Hennicke, F., Bálint, B., Csernetics, Á., Hegedüs, B., Zhou, Z., Liu, X.B., Nan, S., Pareek, M., Sahu, N., Szathmári, B., Varga, T., Wu, H., Yang, X., Merényi, Z. (2023) Lessons on fruiting body morphogenesis from genomes and transcriptomes of *Agaricomycetes*. *Stud Mycol*, 104:1-85. IF: 16.5

Pál, C., Papp, B. (2023) How selection shapes the short- and long-term dynamics of molecular evolution. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 120(33):e2311012120. IF: 11.1

Sahu, N., Nagy, L.G. (2023) Horizontal gene transfer explains unusual traits of *Armillaria* fungi. *Nat Microbiol*, 8(9):1617-1618. IF: 28.3

Sahu, N., Indic, B., Wong-Bajracharya, J., Merényi, Z., Ke, H.M., Ahrendt, S., Monk, T.L., Kocsubé, S., Drula, E., Lipzen, A., Bálint, B., Henrissat, B., Andreopoulos, B., Martin, F.M., Bugge Harder, C., Rigling, D., Ford, K.L., Foster, G.D., Pangilinan, J., Papanicolaou, A., Barry, K., LaButti, K., Virágh, M., Koriabine, M., Yan, M., Riley, R., Champramary, S., Plett, K.L., Grigoriev, I.V., Tsai, I.J., Slot, J., Sipos, G., Plett, J., Nagy, L.G. (2023) Vertical and horizontal gene transfer shaped plant colonization and biomass degradation in the fungal genus *Armillaria*. *Nat Microbiol*, 8(9):1668-1681. IF: 28.3

Sikkema, L, Ramírez-Suástegui, C., [...], Lung Biological Network Consortium, [...], Theis, F.J., (Lung Biological Network Consortium member: Horváth, P.) (2023) An integrated cell atlas of the lung in health and disease. *Nat Med*, 29(6):1563-1577. IF: 82.9

Sturm, Á., Saskői, É., Hotzi, B., Tarnóci, A., Barna, J., Bodnár, F., Sharma, H., Kovács, T., Ari, E., Weinhardt, N., Kerepesi, C., Perczel, A., Ivics, Z., Vellai, T. (2023) Downregulation of transposable elements extends lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *Nat Commun*, 14(1):5278. IF: 16.6

Szadai, L., Guedes, J.S., Woldmar, N., de Almeida, N.P., Jánosi, Á.J., Rajeh, A., Kovács, F., Kriston, A., Migh, E., Wan, G., Nguyen, N., Oskolás, H., Appelqvist, R., Nogueira, F.C., Domont, G.B., Yu, K.H., Semenov, E.R., Malm, J., Rezeli, M., Wieslander, E., Fenyő, D., Kemény, L., Horvath, P., Németh, I.B., Marko-Varga, G., Gil, J. (2023). Mitochondrial and immune response dysregulation in melanoma recurrence. *Clin Transl Med*, 13(11):e1495. IF: 10.6

Tarban, N., Papp, A., Deák, D., Szentesi, P., Halász, H., Patsalos, A., Csernoch, L., Sarang, Z., Szondy, Z. (2023) Loss of adenosine A3 receptors accelerates skeletal muscle regeneration in mice following cardiotoxin-induced injury. *Cell Death Dis*, 14(10):706. IF: 9

Takács, R., Vágó, J., Póliska, S., Pushparaj, P., Ducza, L., Kovács, P., Jin, E., Barrett-Jolley, R., Zákány, R., Matta, C. (2023) The temporal transcriptomic signature of cartilage formation. *Nucleic Acids Res*, 51(8):3590-3617. IF: 14.9

Váradi, G., Kele, Z., Czajlik, A., Borics, A., Bende, G., Papp, C., Rákhely, G., Tóth, G.K., Batta, G., Galgóczy, L. (2023) Hard nut to crack: Solving the disulfide linkage pattern of the *Neosartorya (Aspergillus) fischeri* antifungal protein 2. *Protein Sci*, 32(7):e4692. IF: 8

Verster, K.I., Cinege, G., Lipinszki, Z., Magyar, L.B., Kurucz, É., Tarnopol, R.I., Ábrahám, E., Darula, Z., Karageorgi, M., Tamsil, J.A., Akalu, S.M., Andó, I., Whiteman, N.K. (2023) Evolution of insect innate immunity through domestication of bacterial toxins. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 120(16):e2218334120. IF: 11.1

Vidal, J.M., Cseh, P., Merényi, Z., Bóna, L., Rudnóy, S., Bratek, Z., Paz, A., Mleczek, P., Kozak, M., Chachuła, P., Assyov, B., Slavova, M., Kaounas, V., Konstantinidis, G., Rodríguez, F., Cabero, J., García-Verdugo, F., García-Alonso, F., Mahiques, R., Fantini, P., States, J.S. (2023) The genus *Gautieria (Gomphales)* in Europe and the Mediterranean Basin: a morphological and phylogenetic taxonomic revision. *Persoonia - Mol Phyl Evol Fungi*, 50:48-122. IF: 9.1

Zhang, S., Wang, T., Lima, R.M., Pettkó-Szandtner, A., Kereszt, A., Downie, J.A., Kondorosi, E. (2023) Widely conserved AHL transcription factors are essential for NCR gene expression and nodule development in *Medicago*. *Nat Plants*, 9(2):280-288. IF: 18

*Kedves Kollégák!*

A **Magyar Biokémiai Egyesület 2024. évi Vándorgyűlése** Budapesten, az ELTE TTK Lágymányosi Kampuszán kerül megrendezésre **augusztus 29-31.** között.

A konferenciára minden itthon és külföldön dolgozó kollégát szeretettel várunk!

A Vándorgyűlésről további tájékoztatást az egyesületi levelezőlistán fogunk küldeni.

A szervező bizottság:

*Buday László  
Kovács Mihály  
Lipinszky Zoltán  
Lontay Beáta  
Micsonai András  
Vas Virág*

## KÖSZÖNTŐ

Az **53. Membrán-Transzport Konferencia** a hagyományokhoz híven 2024-ben is Sümegen, a Hotel Kapitányban kerül megrendezésre **május 14-17 között**. A konferenciák multidiszciplináris jellegét megőrizve a konferencia előadásszekciói a membránokkal, jelátviteli folyamatokkal kapcsolatos szerteágazó területeket ölelnek fel, többek között a membrántranszport, membránszerkezet, a membrán, mint terápiás célpont, extracelluláris vezikulák és mesterséges lipidpartikulumok sejt- és orvosi biológiai jelentősége témaköröket. Továbbá szó lesz a sejten belüli membránstruktúrákról, intracelluláris vezikulákról, organelumokról, membrán-toxinokról, az onkológia és immunológia új diagnosztikus és terápiás lehetőségeiről, valamint az új mikroszkópos technikák és a mesterséges intelligencia sejtbiológiai kutatásokban történő felhasználásáról is. A tudományos szekciók szervezői a meghívott előadók prezentációit a beadott absztraktok alapján válogatott előadásokkal színesítik.

A sümegi konferenciákon különösen fontos a fiatal kutatók szakmai fejlődésének segítése. A bemutatott poszterek alapján a poszterszekciók legkiemelkedőbb fiatal kutatói lehetőséget kapnak, hogy tudományos eredményeiket szóbeli előadás formájában is prezentálhassák a konferencia zárónapján a „Fiatalok fóruma” szekcióban.

Várjuk a biofizika, biokémia, genetika, élettan, onkológia, immunológia, gyógyszer-tudomány, kutató orvos- és agrártudomány képviselőit, akiknek tágabb kutatási területe kapcsolódik a membránokhoz, a transzport- és jelátviteli folyamatokhoz. A konferencia különleges helyszíne, a Hotel Kapitány ideális környezetet biztosít mind a szakmai programokhoz, a gondolatébresztő eredmények és új technikák megismeréséhez, a szakmai kapcsolatok építéséhez, mind a kötetlen beszélgetésekhez.

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

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

A szervezőbizottság nevében:

*Dr. Keller-Pintér Anikó*  
Szegedi Tudományegyetem  
SZAOK Biokémiai Intézet

*Dr. Török Zsolt*  
HUN-REN SZBK  
Biokémiai Intézet



## FEBS: 60 years strengthening the biomolecular sciences community

*FEBS is celebrating its 60th anniversary in 2024 and we warmly invite you to join us!*

In the vibrant era of the early 1960s, a visionary collaboration among leading European scholarly Societies ignited a remarkable journey in the realm of biochemistry. In 1964, born from this synergy was a formal charitable framework – the Federation of European Biochemical Societies (FEBS), a beacon of unity and knowledge exchange across the continent. What began as a spark of collaboration soon blazed into a radiant platform fostering scientific understanding across borders. From its inaugural FEBS Congress, a magnificent journey unfolded, sprouting branches such as the esteemed journals FEBS Letters and The FEBS Journal. These not only became bastions for scholarly revelations but, through their income, also supported a thriving platform for FEBS' other programmes.

As the years unfolded, FEBS embraced the ethos of progress, with its portfolio expanding to Advanced Courses for training and updates in specific research areas, and Fellowships nurturing international visits for lab research endeavours. Throughout the time, FEBS has spread its horizons, welcoming the dynamic wider landscape of molecular life sciences, transcending political boundaries, and accepting new member Societies. With the dawn of the 21st century, FEBS began pivotal programmes championing education, gender equality in science, empowerment of emerging scientists, as well as communication with the general public. Furthermore, it embraced developments in scientific publishing and has established two open access journals: FEBS Open Bio and Molecular Oncology. However, a focal point in numerous FEBS programmes persists: facilitating scientific exchange and collaboration among researchers from diverse countries, and supporting the advancement of early-career scientists through training initiatives.

As we stand on the cusp of commemorating six decades of FEBS' unwavering support to the molecular life sciences community, anticipation fills the air. In 2024, a jubilant celebration awaits – replete with interesting competitions, special awards, and a grand unveiling of a global Molecular Life Sciences Day in March. Join us in honouring this remarkable journey as we reflect on 60 years of fostering scientific exchange, nurturing collaborations across borders, and empowering the next generation of trailblazers.

FEBS has been by your side for 60 years, so be prepared to be a part of a joyful festivity honouring this milestone – it's time to celebrate and revel in the rich tapestry of our shared scientific heritage!

*FEBS 60<sup>th</sup> Anniversary Organising Committee*



## FEBS 60TH ANNIVERSARY

**Bio-Art Image Contest: "The beauty behind biological sciences"****Regulations, terms and conditions****§1**

The aim of the BIO-ART IMAGE CONTEST "THE BEAUTY BEHIND BIOLOGICAL SCIENCES" is to select the most interesting, intriguing photos of high artistic value that were taken with the use of bio-imaging tools (microscopes of any type) in the course of scientific work.

**§2****General provisions**

1. These regulations, hereinafter referred to as "the Regulations", define the rules of the BIO-ART IMAGE CONTEST "THE BEAUTY BEHIND BIOLOGICAL SCIENCES", hereinafter referred to as the "the CONTEST". The CONTEST is organized by FEBS (ORGANIZER), the Italian Society of Biochemistry and Molecular Biology (CO-ORGANIZER) and the Polish Biochemical Society (CO-ORGANIZER).
2. The Submitters must be a registered [48th FEBS Congress](#) attendee OR a member of a [FEBS Constituent Society](#). A submitter may not enter the work of another person.
3. Submissions are limited to one image per person.

**§3****Competition schedule**

1. Submissions for the CONTEST (**by email to [bioart@febs.org](mailto:bioart@febs.org)**) will be accepted until **JUNE 1st, 2024** (e-mail correspondence date is decisive; the Organizers will not take into consideration delays caused by external factors).
2. Submissions sent after this date will not be considered in the CONTEST.
3. Entries will be limited to the first 100 completed entries received. A complete entry must include an image, title, and description of the image, as well as a statement that you are a registered 48th FEBS Congress attendee or a member of a FEBS Constituent Society.
4. The results of the CONTEST and information about the date of the exhibition combined with award ceremony will be published on the 48th FEBS Congress website (<https://2024.febscongress.org>).

## §4

## Conditions of participation

1. All entries must be fully original and creations solely of the entrants. By entering, all participants warrant and represent that 1) their respective entries are their own fully original creations; 2) if any third-party content was used to create the image that they have full rights to use that content; and 3) their respective entries will not infringe or violate the rights of any third parties, including but not limited to copyrights, trademarks and rights of publicity/privacy.
2. In the event of bringing legal action against the ORGANIZER and CO-ORGANIZERS by third parties regarding copyright infringement and image rights, the Submitter is obliged to pay for legal representation, court fees as well as pay any compensation ordered by a court or the cost of a settlement.
3. By entering the CONTEST, a Submitter grants the ORGANIZER and CO-ORGANIZERS a right and license to use, reproduce, modify, adapt, publish or display (in whole or in part) any intellectual property contained in the content of their submission, without royalty, payment, or other compensation.
4. By entering the CONTEST, the Submitter agrees to the free use of personal data and personal image to the extent necessary to conduct the CONTEST and publicity around winning entries.

## §4

## Image requirements

1. The subject of the CONTEST is a microscopic photograph (hereinafter referred to as the "**the Image**") made independently by a Submitter using any type of microscope.
2. Images that received awards in other contests cannot be submitted.
3. The Images should meet the following requirements:
  - document format: .JPG
  - minimum size: 2000 pixels (px) on the longest side
  - minimum resolution: 300 dpi
  - file size not exceeding 10 MB (JPG)
4. Description of the Image should include:
  - title of the picture
  - a short description of the imaged object, maximum 50 words
  - details of labeling technique (if any), equipment used to capture an image (camera, microscope, etc.), information about image modifications (if any)
5. Accepted methods of modifying raw image:
  - deconvolution
  - 3D reconstruction
  - using graphic software to process the whole or part of an image (including color, contrast, and light adjustments)
  - conversion of color photos to black and white/sepia
  - applying color filters
  - cropping up to 40% of the image

6. Photos that do not meet the requirements above will be excluded from the CONTEST.
7. Photos resulting from photomontage, including combining images from different files or fragments of the same file, will be excluded from the CONTEST.

## §5

### Selection of winners

1. Judging will be based on the following:
  - a) Scientific significance
  - b) Originality
  - c) Artistic and/or visual impact
2. A panel of judges will select a group of 10 finalists from these 100 images.
3. All Submitters will be contacted via email on or before June 10th, 2024, with the results.
4. The CONTEST will consist of two stages. The first stage will be the formal acceptance of submissions and selection of the 10 best images for the second stage. 10 selected images will be on display during the 48th FEBS Congress.
5. In the second stage, the five best images (1st, 2nd, and 3rd prize winners and two recognitions) will be selected based on the voting results of all 48th FEBS Congress participants.

## §6

### The prizes

1. During the CONTEST, three winners and two recognitions will be selected.
2. The prizes (paid by FEBS) in the CONTEST are:
  - a. 1st Prize (500 EUR),
  - b. 2nd Prize (300 EUR),
  - c. 3rd Prize (200 EUR),
  - d. two recognitions (2x100 EUR)

NB: Prizes cannot be paid to recipients in countries where embargoes, sanctions or similar restrictions are in place.

3. The Organizers may extend the pool of prizes and distinctions beyond the Regulations.
4. The list of winners and awarded persons will be announced on the Congress and FEBS websites. The Organizers reserve the right to display photos from the award ceremony, including personal images of all awarded participants with their personal data on the website.

5. The tax on the main prizes is paid by the winner.

#### §7

#### Final provisions

1. The Regulations are available on the and website of the 48th FEBS Congress and the FEBS website.
2. The Organizers are not responsible for the incorrectness of the data provided by the Participant.
3. The Organizers reserve the right to modify the provisions of the Regulations at any time for important reasons and to cancel the CONTEST.
4. If the contact details of Submitter change, the Submitters is obliged to immediately notify the Organizers.

## BEMUTATKOZIK A „FEBS NETWORK”

Nyitray László<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biokémiai Tanszék*

<sup>2</sup>*FEBS Network Committee*

A FEBS Network (<https://network.febs.org/>) fő megálmodója, a Magyar Biokémiai Egyesület korábbi elnöke, a FEBS végrehajtó testületének hosszú időn keresztül igen aktív tagja, a nagy presztízsű FEBS „Diplôme d'Honneur” második magyar kitüntetettje (Friedrich Péter után, aki szintén az MBKE elnöke volt), Fésűs László professzor volt. A FEBS Publication Committee elnökeként meghatározó szerepe volt a Wiley kiadóval 2019-ben létrejött szerződés keretében a négy folyóiratunk kiadását összefogó FEBS Press platform létrejöttében, amely a „science publishing by scientists” mottóval működik. A Wiley-szerződés támogatásával indult el [FEBS Network](#), amely Fésűs professzor szavaival „sokkal több, mint egy klasszikus értelemben működő honlap”. A platform így mutatja be önmagát (rövidítve):

„A FEBS Network célja nemzetközi fórum biztosítása a molekuláris és sejtszintű élettudományok területén dolgozó tudósok számára, lehetővé téve számukra, hogy megosszák egymással tapasztalataikat, szakmai híreiket, kapcsolatokat és együttműködéseket építsenek, végső soron a kutatómunka előmozdítása céljából.

A Network oldalain megjelenő tartalmakat meghívott szakértők és regisztrált egyéni közreműködők négy „csatornán” mutatják be: „[Early-Career Scientist](#)”, „[Educator](#)”, „[Viewpoints](#)” és „[Research](#)”. Emellett közösségi „szobák” FEBS csoportok, egyes FEBS eseményeken résztvevők, adott részterületek iránt érdeklődő kutatók számára nyújtanak kommunikáció felületet.

A regisztrált kutatók létrehozhatnak egy profiloldalt, ahol bemutathatják érdeklődési területüket és releváns tartalmakat posztolhatnak, megtekinthetik a weboldalakon található „community-exclusive” tartalmakat, feliratkozhatnak az érdeklődési körükbe tartozó értesítésekre, posztokra reagálhatnak lájkkal és kommentárokkal, használhatják a 'chat' funkciót a szobákban, közvetlen üzeneteket küldhetnek más regisztrált felhasználóknak, és követhetik a kiválasztott hozzájárulókat. A regisztráltak jelenleg ingyenes hozzáférést is élveznek a FEBS Journal és a FEBS Letters folyóiratokhoz.”

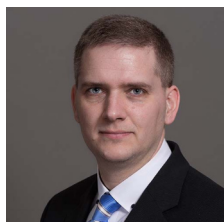
Jelen rovat elindítója a Biokémia újságban, Nyitray László az immáron 4 éve működő Network Committee „Channel overseer” képviselője, akit a FEBS Fellowship Committee delegált erre a posztra (amelynek választott képviselője volt 2017-21 között). A most induló rovatba az elmúlt hónapok néhány érdekesebb posztját fogom „átemelni”, nem titkoltan azzal a céllal, hogy minél többen kedvet kapjanak a FEBS Network-ön történő regisztrálásra, tájékozódjanak ott is a tudományterületünk aktuális eseményeiről, híreiről, s nem utolsósorban maguk is tartalmakat osszanak meg másokkal. Az Egyesületünk tagjai komoly szerepet játszottak korábban is a FEBS működésében és vezetésében, mai is többen dolgozunk egyes FEBS bizottságokban, ezzel szemben jelenleg még meglehetősen alacsony számú magyarországi regisztrált tagot (és olvasót) láttam a legutolsó belső statisztikai táblázatban. Ezért is biztatom e rovat olvasóit, hogy keressék fel a FEBS Network oldalait, s legyenek aktív közreműködők (nem előfeltétel a nemzeti társaságban való tagság sem)! A Network látogatottsága évről évre növekszik, s bár egyelőre messze lemarad a hagyományos közösségi platformok mögött, de bízunk benne – talán e rovat révén is –, hogy ez a jövőben változni fog. Néhány statisztikai adat 2013-ból: >200 csatorna poszt, 22 ezer látogató, 86 ezer „views”, 670 regisztráció (összesen 3150 regisztrált).

Az első átvett tartalmak közül Kun Ádám evolúcióbiológus kolléga (az ELTE egyetemi docense) posztja az adott év egyik legtöbbször „rákattintott” írása volt. Brook Morriswood az „Early-career Scientist” csatorna „legtermékenyebb” közreműködője, aki saját maga készíti a posztjai illusztrációit is (izgalmas saját blogja, a [„Total Internal Reflection. Science seen from within”](#) is látogatásra érdemes). Végül a „how to” kategóriába tartozó harmadik „átvétel” kapta a Network eddigi története során a legtöbb „klikkelést”, valószínűleg nem véletlen, mivel a bioinformatikai tudás széles körben lehet hasznára az molekuláris élettudományok „early-career”, de a már „established” kutatói számára is.

## DEAR DIARY, I MEAN CV

*Published Feb 14, 2023*

Your CV should list all the activities your current or future employer finds interesting. As you cannot know what – and why – is important for them, please record all your activities irrespective of how important you think they are.



[Ádám Kun](#), associate professor, Eötvös University

I'm writing a short essay for the FEBS Networks. I insert that line into my CV immediately, so that I do not forget it. Why? It is not a peer-reviewed paper, it is not even a conference abstract, so why should I care?

### **You put into your CV things that someone else cares about, mainly your current and future employers.**

My CV as a PhD student had some personal data, education, papers, and conferences. The standard stuff. I never included hobbies, albeit now I prefer to work with students with whom I have a shared interest. Makes the years we are going to work together more enjoyable. So, hobbies should have been included. Conferences were already split between international and domestic (Hungarian) ones, and talks and posters were listed separately. I do not think that posters are worth less than a talk (posters are more work, so I like them much less), and I definitely do not think that a national conference is less interesting than an international one. But employers beg to differ. For my Hungarian employers, at least back in the early 2000s, a lecture at an international conference was more important than a poster at a Hungarian meeting.

Now my CV has information on positions (my employer changed quite a few times, while my desk has not moved an inch), education; international visits and fellowships; funding ID; awards and honors; conference organization; membership in committees; teaching activities; media appearance; science communication; reviewing for journals and grant agencies. The publication list is divided into journal articles, book chapters, textbooks, popular science books, popular science articles in print, and conferences. In my Hungarian CV, international conferences and Hungarian ones are still listed separately. Sometimes I also list all the science blog entries, podcast episodes, YouTube videos, etc. that I have done over the years. I still do not list my hobbies. Odd.

You should record pretty much everything you do as a scientist/educator. You might not know what your current or next employers want to know about you, what is important for them.

This is the key: it is important for them. It might not be that important to you, but for them it is. Some of it is understandable, and some of it is more obscure. For example, my university asks us to list talks or other science-related activities we do with high schoolers. Universities recruit their future students among the high schoolers, so lectures given by their staff to this age group show that they are active in recruitment. You might not actively beg them to enroll in your program, but if they like what you do, they might consider it or recommend your program to someone they know who is interested. Also, as an "insider" (most high schoolers know relatively little about university life and studies) you can even give them good advice about your university in general. Your head of the institute, dean, or whoever, will be happy that they can say that university staff is busy recruiting new students.

Appearing in the news – and in a small country like Hungary that could very well mean the big news outlets, national radio, or TV – is also important for your institute, even if you think it is not important for you. Your experiment won't become any quicker after an interview, reviewers won't accept your manuscript more (or less), and you cannot expect to get a better grant. But your institute likes good press. For most of us, our workplace is publicly funded, and media appearances can strengthen the feeling that investing money into science is worthwhile.

You gave a talk at an institute seminar. You were just there to do some work with one of their staff and it is common to ask visitors to give a talk. You selected one of the usual presentations (the one titled `EverythingImportantInTheWorld-AndIDidIt.pptx`), changed the date and location, and maybe checked that your latest paper appears in it somewhere. You gave the talk. Now you put that fact into your CV. For you, it might not be as important as being the invited speaker at the Biannual Big Meeting of Your Field, but it might be important for your current or future employer (see, there is a pattern here). When the Minister of Education of another country visits your university (or visits just your country's minister of education, but there are some rectors present at the customary speeches), 'high-ups' like to tell them that our staff has many connections with their country (and that there should be even more connections). So, there will

be an email from the administration asking you to list all connections you have with that other country (and please do it by yesterday). If you have it on your record, you can easily pull that information out. Of course, the administration could also obtain it from your CV, but they are too busy thinking up new ways to burden you.

The whole issue came up during a winter school for PhD students. For a report on a [European project](#) (This project has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under the Marie Skłodowska-Curie grant agreement No 955708.) we are required to list all talks, events, pitch speeches, flyers, policy recommendations, media appearances, retweets, likes, etc. And we also had to list the number of people we reach through these activities. Yikes! To be honest, so far I had not been recording the number of people listening to my conference talks, or the class sizes when I give a presentation in a high school. There might be limits on the details one can give on their activities. My CV should not be a detailed autobiography volume XVIII to XLVI, but it should still be reasonably complete on my professional activities.

And by the way, please hit the like button! I then can report the number of likes, and you can report the fact that you regularly read the FEBS Network 😊

## THE 9 TYPES OF PEER REVIEWER

Published Apr 18, 2023



[Brooke Morriswood](#), former group leader, University of Würzburg

The peer review process is simultaneously one of the most valuable and one of the most frustrating aspects of scientific publishing. Let's take a look at some of the peer reviewers that you might encounter...

### 1. Pedant

*"Be sure to include the counterion with every pH buffer, Tris-HCl, PIPES-NaOH etc..."*

(+) Finds and corrects every single minor mistake in the manuscript. Great at policing errors.

(-) Can't see the wood for the trees. Sometimes misses the big scientific blunders altogether.

Undoubtedly valuable, but often exhausting for authors and editors alike as they produce 1000+ word reviews detailing every tiny inaccuracy. Occasionally guilty of proofreading the manuscript rather than actually reviewing it – their obsession with minutiae can blind them to bigger omissions such as missing controls, alternative interpretations, and the like. Pedants in general are younger than other reviewers, and their level of detail reflects their closer proximity to the bench.

### 2. Stream-of-consciousness

*"I was abit surprised at what the authors we're claiming here"*

(+) Fast and impressionistic feedback.

(-) Unstructured and often riddled with typos.

You get their opinion on the manuscript, almost in real time! Would probably vlog their reviews if they could, and it's sometimes possible to infer what their facial expressions must have been based on their use of punctuation. Typos pile up when they get excited. Frequently end up repeating or contradicting

themselves, which is a nightmare for authors. Closely related to the last-minuter.

### 3. Broad brushstrokes / Big thinker

*"The implications of this work are potentially transformative for the field"*

(+) Sometimes finds significance that you didn't realise was there.

(-) Provides no technical or in-depth feedback whatsoever.

The style often adopted by more senior scientists, who tend not to dwell on the details (unlike the Pedants) because (a) it's beneath them, and (b) they've often been away from the bench for so long that they don't understand the techniques any more. Nonetheless valuable as they tend to critique the logic and interpretations put forward by the authors, rather than quibbling over smaller items.

### 4. Hijacker

*"In order to properly demonstrate what the authors claim, they will need to..."*

(+) Thoroughly understands and critiques the story.

(-) Tries to get you to do all the experiments they would have done in your place.

A very common reviewer species, this one treats your manuscript as if it was their own work, and then tries to get you to do all the experiments that they would have done if it was their paper. Nonetheless a valuable source of expert advice, and their recommendations are often sound (or easily rebutted if trivial).

### 5. Assassin

*"I feel this story needs more work in order to be acceptable."*

(+) Quietly and efficiently kills your competitors' papers.

(-) Quietly and efficiently kills your papers.

To be feared. They know how to slide the knife in gently, and can kill a paper without giving a hint of bias or animosity (which may not necessarily reflect their true feelings). Masters of specious praise and carefully-calculated requests. Assassins can either kill a paper outright or cripple it for long periods and slow down publication considerably.

## 6. Sycophant

*"The data are of the quality that's always associated with this group"*

(+) Generous, possibly over-generous feedback.

(-) May feel you owe them something.

You should be grateful, but somehow Sycophants always leave you feeling slightly dirty afterwards. They're nice and supportive and may well be sincere, but there's always this nagging sense that they simply aren't being critical enough (which sometimes makes you question whether they've really understood the paper). Motivations can vary widely, from altruistic to toadying. For all that, it's a hard heart that begrudges their warm embrace.

## 7. Bitter lemon

*"The images shown here are embarrassingly poor. And again no quantitation"*

(+) Gives you a horror story to share with friends?

(-) Taking out personal frustrations rather than actually reviewing your paper.

The very worst kind of reviewer. Call them bitter lemons, poisoners, arsonists, roadragers or something else, their behaviour is the same – under cover of anonymity, they shit all over your work, and usually in order to vent their own frustrations. Everybody knows that if you try hard enough you can find fault with anything, and bitter lemons will do their damndest to make your paper sound worthless, regardless of its actual quality. They're mean, unprofessional, uncharitable, and you're almost certain to be on the receiving end of one at some point. Don't let this be you!

## 8. Last-minuter

*"I only have a few points to raise."*

(+) Short reviews that can be addressed easily.

(-) Doesn't expend the time to properly assess the paper.

Similar to the Stream-of-Consciousness, though Last-Minuters tend to be overworked rather than disorganised. Consequently their reviews are more structured, generally the shortest of all, but often helpful. Like the Big Thinker, they tend to cut to the essentials when they get it right, but can sometimes be

too superficial in their reading.

## 9. Unicorn

*"I have a few suggestions that the authors may wish to implement"*

(+) Wise, temperate, constructively critical and balanced assessment of your work.

(-) Rarely encountered.

What everyone should aspire to be. Dispassionate, fair, and constructive criticism that's neither a soft touch nor impractically tough. Courteous in language, even when they're gently pulling something to pieces, and provide a real sense of intellectual engagement with both the practical and interpretative aspects of the work.

Silliness aside, it's worth noting that while these different types of reviewers all have flaws, they often work very well in combination and invariably – with the exception of Bitter Lemons – leave manuscripts better off for their involvement. Good editors will combine types in order to get maximum scrutiny without overloading the authors with feedback (three Pedants reviewing a paper will be exhausting for all concerned, for example), and a combination of generalist and specialist assessment is the ideal. Obviously, individual scientists are capable of adopting different personae when they review, so it's not inconceivable that a Bitter Lemon will be a Hijacker or a Big Thinker depending on the circumstances.

Liked it? Then have a look at some of the other entries in this series:

[The 9 Types of academic authors](#)

[The 9 types of grant reviewer](#)

### **Acknowledgement:**

Probably the single biggest influence on TIR, and a major impetus to its foundation, were the [Dent cartoons](#) published at NIH during the 90s – this posting is a heartfelt homage to the "9 types trilogy" of PhD, postdoc, and group leader. Check them out if you haven't seen them before.

Originally posted on **TIR** - [here](#).

## WHY AND HOW SHOULD YOU START LEARNING BIOINFORMATICS?

*Published Jun 27, 2022*

Learning bioinformatics in a self-directed way might feel like getting lost in a forest but there is plenty of information online – and support from others – that can help guide your learning. On this useful post, Fernando Pozo suggests approaches and resources to start your bioinformatics journey.



[Fernando Pozo](#), Bioinformatician, Spanish National Cancer Research Centre

**Spoiler alert:** After reading this article, you will have full access to most of the materials you need to start managing bioinformatics. Hold your money, book a time to enjoy learning, open your laptop and please click all the URLs!

### Why should you learn bioinformatics?

2020, December: John Moult, a computational biologist who co-founded [CASP](#) (the Critical Assessment of Structure Prediction) more than 25 years ago, declared that the single-chain protein structure prediction was solved. DeepMind, Google's AI research group led by Demis Hassabis, was the team responsible for creating this breakthrough. It possibly represents the first time computer science and artificial intelligence have significantly advanced the frontiers of humanity's scientific knowledge. It will dramatically solve many 21st-century science problems involving living systems. Now in 2022, [Hassabis has been recently honoured with the prestigious Spain's Princess of Asturias Award](#) (among many other recognitions), and **bioinformatics**, the scientific field surrounded by this discovery, is one of the trendiest disciplines in life sciences.

The National Human Genome Research Institute defines bioinformatics as the scientific discipline that intends to collect, store, analyse and disseminate biological data and information from the genome, such as DNA and amino acid

sequences or annotations about those sequences. The collected data and information will be used afterwards to provide insights into life sciences. This definition leads any researcher to a fantastic but, at the same time, gigantic stage.

### How should you learn bioinformatics?

At this point, if you want to introduce, learn, or even gain expertise in bioinformatics: **how should you start learning?** Please, continue reading to see my 10 noise-free recommendations.

1. Independently of your pre-obtained knowledge in bioinformatics, **start discovering free and curated resources** like the ones I will show here. The traditional education environment in this area is full of outdated and monotonous courses that will not assist with real projects.
2. The ability to **manage freely available resources** is potentially powerful. Firstly, you will learn with significantly updated resources (and as you have noticed in the first paragraph, this is crucial here) and, secondly, taking the opportunity to collaborate or interact with content creators worldwide is precious.
3. **Follow a specific and concrete training plan.** People don't want to swim in a universe of Coursera-like MOOCs, which are often not concrete or updated (and can be expensive). Even the university course selection can be frustrating (and often doesn't follow the previous premises). Consider skipping more general courses.
4. **Foundations in bioinformatics** are covered [here](#) by Professor Aaron Quinlan in the Applied Computational Genomics course. (23 videos of 60'-80' each one) with sorted and updated lectures.
5. **Unix-like OS** (like Ubuntu or MacOS) are your best friends to become a bioinformatician. [Missing Semester](#) shows how you use it in 11 videos of 40'-60' each.
6. **Learning programming** is going to be a must. Start with a concrete and user-friendly language (Python is my recommendation), and you will be ready to discover new things. [The Carpentries](#) have lots of resources prepared for you. If you feel ready and enjoy programming, [hypermodern Python](#) techniques will provide you with the rest.
7. AlphaFold2 used **Machine Learning and Deep Learning** modern techniques as part of their significant breakthrough. This field is vast, but if you want to understand the intersection with bioinformatics, in [MIT Deep](#)

[Learning in Life Sciences](#), Professor Manolis Kellis provides a very detailed course (22 videos of 60'-120').

8. If you feel ready to understand most of the previous concepts, the fantastic community of [nf-core](#) has already set **tons of pipelines** (entirely ready for production) for you. Among +50 pipes, [RNA-seq](#), [variant calling](#), [ChIP-seq](#), or [ATAC-seq](#) end-to-end pipelines are curated, accessible, free, and prepared for your scientific data.
9. Finally, what's happening with **interacting with other people** in the field? It is always a crucial step in learning! Bioinformaticians are over [Discord](#), [Reddit](#), [nf-core slack](#), or RSG countries communities (check for the [community created in Spain](#)). GitHub joins +83M of software developers and therefore, is another wonderful community of bioinformatics scientists, and, by the way, this is a different and [awesome list of bioinformatics resources](#).
10. Extra tip: Still not curious about the power of bioinformatics? Let's start reading one of these three free and **inspiring resources** inside a traditional book: [Modern Statistics for Modern Biology](#), [Cell Biology by the Numbers](#), [Interpretable Machine Learning](#).

I want to thank the people who take care of creating all this fantastic content accessible to everyone entirely for free. I wish you a good bioinformatics trip!

## ÜNNEPELT A DEBRECENI EGYETEM ORVOSI VEGYTANI INTÉZETE: 70 ÉVES DOMBRÁDI VIKTOR ÉS ERDŐDI FERENC

A Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar Orvosi Vegytani Intézet Erdődi Ferenc és Dombrádi Viktor egyetemi tanárok 70. születésnapja alkalmából ünnepi tudományos ülést rendezett 2023. december 8-án. A rendezvény helyszíne a Debreceni Egyetem Tudományos Konferencia Központ (Kenézy Villa) volt.

Az ünnepségen Virág László intézetigazgató életútjaikat bemutató megnyitóját követően Mátyus László, a Debreceni Egyetem, ÁOK dékánjának köszöntésében méltatta a két emeritus professzor karért tett évtizedeken át tartó tevékenységét. Kiemelte, hogy mindig nagyra értékelte, és sokat épült az ünnepeltekkel folytatott őszinte beszélgetésekből. Kiemelte Erdődi Ferenc Tudományos Diákköri Tanács elnökeként 10 éven keresztül betöltött kulcsfontosságú szerepét. Szintén méltatta Dombrádi Viktor molekuláris biológia szakirány elindításában - és szakfelelősként irányításában - tett elvülhetetlen érdemeit.

„Nagy örömmel érkeztem erre a köszöntésre!”-mondta Buday László a HUN-REN TTK főigazgatója, aki a Magyar Biokémiai Egyesület (MBKE) elnökeként méltatta Őket. Beszédében elmondta, hogy az 1980-as évek óta ugyanazon tudományterületen folytatott kutatómunka révén találkoztak, és a mai napig élő kapcsolatot tartanak fenn a protein kinázok és foszfatázok jelátviteli folyamatainak vizsgálatán keresztül. Aláhúzta, hogy mindkét ünnepelt a magyar biokémikusok kiemelkedő alakjai közé tartozik. Mindketten fontos tisztséget láttak el a MBKE-en belül. Erdődi Ferenc a Biokémia folyóirat szerkesztőségi bizottságának tagja, ezt megelőzően pedig debreceni területi képviselő is volt, de számos konferencia szervezésében is részt vett. Munkája elismeréseként 2018-ban az egyesület legrangosabb elismeréseként Tankó Béla díjjal tüntették ki. Dombrádi Viktor pedig az egyesület első debreceni területi képviselőjeként dolgozott éveken keresztül.

Ki ismerné jobban az ünnepeltek érdemeit, mint az Orvosi Vegytani Intézet egykori intézetigazgatója, Gergely Pál professzor emeritus, akadémikus? Meleg szívvel köszöntötte pályatársait, akikkel az 1970-es évek közepe óta együtt dolgozott, mint számos tanulmány társszerzője és első kutatási témájuk vezetője. Gergely Pál kiemelte tudományos pályafutásuk legfontosabb

állomásait. Dombrádi Viktor a glikogén anyagcsere tanulmányozását, a glikogén foszforiláz dimer szerkezetének oldatban való leírását kapta feladatul. Ezt követően Miami-ban, majd Dundee-ben töltött tanulmányútjai alkalmával több új protein foszfatáz katalitikus alegységeket tisztított, illetve klónozott, és rangos nemzetközi publikációkban közölte munkáit. Hazatérve az új típusú gomba és növényi foszfatázok vizsgálatára fókuszált munkacsoportjával. Erdődi Ferenc első témajaként a foszforiláz kinázon folytatott vizsgálatokat, majd a heparin protein foszfatázokat gátló hatását írta le, amely szintén nagy nemzetközi érdeklődést váltott ki. Azóta sem lett hűtlen a foszfatázokhoz, a miozin foszfatáz nemzetközileg elismert szakértője lett.

A Nemzetközi Oktatást Koordináló Központ (NOKK) nevében Fülöp Péter (DE Belgyógyászati Intézet) köszöntötte a 70 éves ünnepeltek. Felolvasta a NOKK vezetőjének, Jenei Attilának humoros hangvételű, baráti üdvözlését, amelyben az évtizedes barátság történeteit, a nemzetközi hallgatók toborzásának nehézségeit és az együtt megoldott problémás helyzeteket villantotta fel. Méltatta Erdődi Ferenc komoly szerepét a NOKK tanácsadó testületében, amiért 2019-ben az „Excellence in International Education” emlékérmet kapta. Fülöp Péter megosztotta a hallgatósággal egyetemista korából származó emlékeit, hiszen Ő maga is az intézetben kezdte tudományos diákköri munkáját Erdődi Ferenc vezetésével.

A program hátralévő részében az ünnepeltek egykori tanítványai, kollégái és együttműködő partnerei kaptak szót. Dombrádi Viktor munkásságáról első PhD hallgatója, Szőőr Balázs (The University of Edinburgh, UK) emlékezett meg. Bepillantást kaptunk abba az úttörőnek számító munkába, ami az 1990-es években a Dombrádi laboratóriumban zajlott: a klónozások, szekvenálási módszerek bevezetésének hajnalán a munkacsoport már gomba foszfatázokat elemzett az akkori legmodernebb molekuláris biológiai technikákkal.

Számokkal köszöntötte Pócsi István, egyetemi tanár, a Debreceni Egyetem TTK, Biotechnológiai Intézet, Molekuláris Biotechnológiai és Mikrobiológiai Tanszékének vezetője Dombrádi Viktort: 25 éve találkoztak, 10 évig dolgoztak együtt a DE ÁOK Molekuláris biológia szak szervezésében, 12 éve tartó közös kutatómunkájuk alatt 10 cikket publikáltak együtt és egy közös OTKA pályázatot nyertek el. Mindemellett maximális precizitást és oktatásszervezési tapasztalatot látott és tanult pályatársától.

„Az alapkutatás haszna sohasem mutatkozik meg olyan hamar, mint az alkalmazott kutatásé, de nem szűnik meg olyan gyorsan”. Selye János idézetével köszöntötte a két ünnepelt kutatót Lipinszki Zoltán, tudományos főmunkatárs (Szegedi Biológiai Kutatóközpont), aki bár közvetlen munkakapcsolatban nem állt Dombrádi Viktorral, de pályájuk közös kutatási területük miatt számos ponton keresztezte egymást. Lipinszki Zoltán átadta Dombrádi Viktorral közös Dundee-i együttműködő partnereik, David M. Glover (University of Cambridge, jelenleg California Institute of Technology, USA) és Myles Axton (Luminous Mind Inc.) professzorok személyes hangvételű születésnap üdvözlését.

Tóth Attila, egyetemi tanár (DE, ÁOK, Kardiológiai Intézet) Erdődi Ferenc egykori PhD hallgatója a számok helyett inkább az ember bemutatására fektette a hangsúlyt. „Feritől azt tanultam, hogy nem számít a cifra szó: a tett számít.” Majd hozzátette: „Egy igazi tanítómester vágya és célja nem az, hogy a tanítványa utolérje őt, hanem hogy túlszárnyalja! Így éreztem, hogy Feri vállára támaszkodhattam - nem vetélytársként, hanem barátként”.

Végül Erdődi Ferenc egykori PhD hallgatójaként abban a megtiszteltetésben részesültem, hogy én is köszönhettem az ünnepeltet, akit csaknem 30 éve ismerek. Kollégáink és a magam nevében is csak annyit mondhatok, hogy megtiszteltetés vele dolgozni, hiszen a szakmai egyenesség és precizitás mellett egy másokra odafigyelő, *roppant színes egyéniséggel van módunk együtt dolgozni. Erdődi Ferenc az orvostanhallgatók körében népszerű és legendásan jó előadó, aki a 100-nál több közlemény mellett a magyar orvostanhallgatók alapművének számító kémia tankönyvek írásában és szerkesztésében is részt vett. Mentori kiválóságát ÁOK Kiváló Oktató, Fáy András díj, Mestertanár Aranyérem és Máriási díj is fémjelezi.*

A helyszíni köszöntőket Wolfgang Péter (University of Connecticut, USA) video köszöntése követett, amiben a protein foszfatáz terület egyik legelismertebb szerkezetbiológusa megköszönte, hogy Erdődi Ferenc számos ismerettel szolgált számára az 1-es típusú protein foszfatázok családjáról.

A laudációkat követően adták át az ünnepelték ajándékait: a személyes történeteken alapuló tárgyakat, illetve a két kutató által évtizedekig tanulmányozott protein foszfatáz 1 katalitikus alegység, illetve a miozin foszfatáz szabályozó alegység 3D modelljeit.

Végezetül ezen sorokkal szeretném személyesen is köszönteni Öket, és megköszönni az intézet munkatársai nevében is évtizeden keresztül végzett iskolateremtő, magas színvonalon folytatott munkájukat, valamint tudományszervezési, közszolgálati tevékenységüket! Mindannyiunknak példaértékű a munkásságuk és tiszteletet érdemlő emberi, kollegiális hozzáállásuk!

*Lontay Beáta  
Debreceni Egyetem  
Orvosi Vegytani Intézet*



**Dombrádi Viktor (jobbra) és Erdődi Ferenc (balra) az általuk vizsgált fehérjék, a protein foszfatáz katalitikus alegység és a miozin foszfatáz szabályozó alegység szobraival.**



**Dombrádi Viktor egykori tanítványai körében (balról jobbra: Szőőr Balázs, Dombrádi Viktor, Vissi Emese).**



**Erdődi Ferenc munkatársaival (balról jobbra: Döcsa Andrea, Kovács Éva, Barta Kitti, Erdődi Ferenc, Farkas Andrea, Ungvári Ádám).**

## FELHÍVÁS

Ugyan már korábban elindult a „Fórum” rovat, amely közérdekű bejelentések, vélemények, esetleges diszkussziók közreadásának kívánt teret nyújtani, de az eddigiekben nem hemzsegtek az ilyen jellegű írások. Ezért újból bátorítanék mindenkit, hogy véleményét, vagy témafelvető gondolatát nyugodtan küldje el Gallyas Ferenc rovatvezetőnek a [ferenc.gallyas@aok.pte.hu](mailto:ferenc.gallyas@aok.pte.hu) e-mail címre, tekintettel arra, hogy a Szerkesztőbizottság döntése értelmében a továbbiakban is én moderálnám ezt a rovatot. Az írás bármilyen, a tudományos közéletet érintő vagy foglalkoztató témát érinthet különösebb megkötések nélkül.

## KÖNYVISMERTETŐ

Maksay Gábor tagtársunk tollából az elmúlt évben megjelent egy „Tudományos Kaleidoszkóp” című könyv, amelyet Hudecz Ferenc, az MTA alelnöke mutatott be a Kossuth Klubban<sup>1</sup>. Kedvcsináló jelleggel, az alábbiakban részleteket adunk közre akadémikus úrnak a Kémiai Panorámában<sup>2</sup> megjelent laudiációjából:

„Könyvének kulcsszavai – természettudományos ismeretterjesztés, kémiai kommunikáció, receptorszerkezet, átmeneti szimmetriasértés, tudománytörténet, interdiszciplinaritás – a természettudományi tartalom mellett felhívják a figyelmet a tudomány, a tudományos ismeretek történelmi beágyazottságára, egyben rámutatnak arra is, hogy a jelenségek, a vegyületek, molekulák szerkezete, az anyagi tulajdonságok és a viselkedés megértése több tudományterület együttes eredményeinek a fényében lehet csak megalapozott. Az olvasóban kialakuló képnek van tehát nélkülözhetetlen beágyazottsága és figyelemfelhívó hatása arra nézve, hogy a különböző tudományterületek eredményeinek megértése, e területek együttműködésének (pl. biofizika, kémia, sejtbiológia) átlátása ugyancsak nélkülözhetetlen.

A kötet összeállítása és az írások egymás melletti, kaleidoszkopikus bemutatása kissé provokatív, de kitűnő gondolatnak bizonyult. A könyvet legalább kétszer ajánlott átolvasni. Először folyamatosan, talán a részletekre kevésbé fókuszálva. Ezzel a módszerrel átfogó „képet”, áttekintést kap az olvasó, és meggyőződhet arról, hogy jól választott. A második olvasás során az olvasónak vélhetően kedve támad mélyebben utánaolvasni például egy-egy izgalmas tudományos/műszaki problémának, egy-egy felfedezés körülményeinek, egy-egy kutató teljes életútjának.”

---

<sup>1</sup> Elhangzott a „Tudományos kaleidoszkóp” című kötet bemutatóján, Kossuth klub, Budapest, 2023. december 4.

<sup>2</sup> Kémiai Panoráma (2023) 27: 31-32.