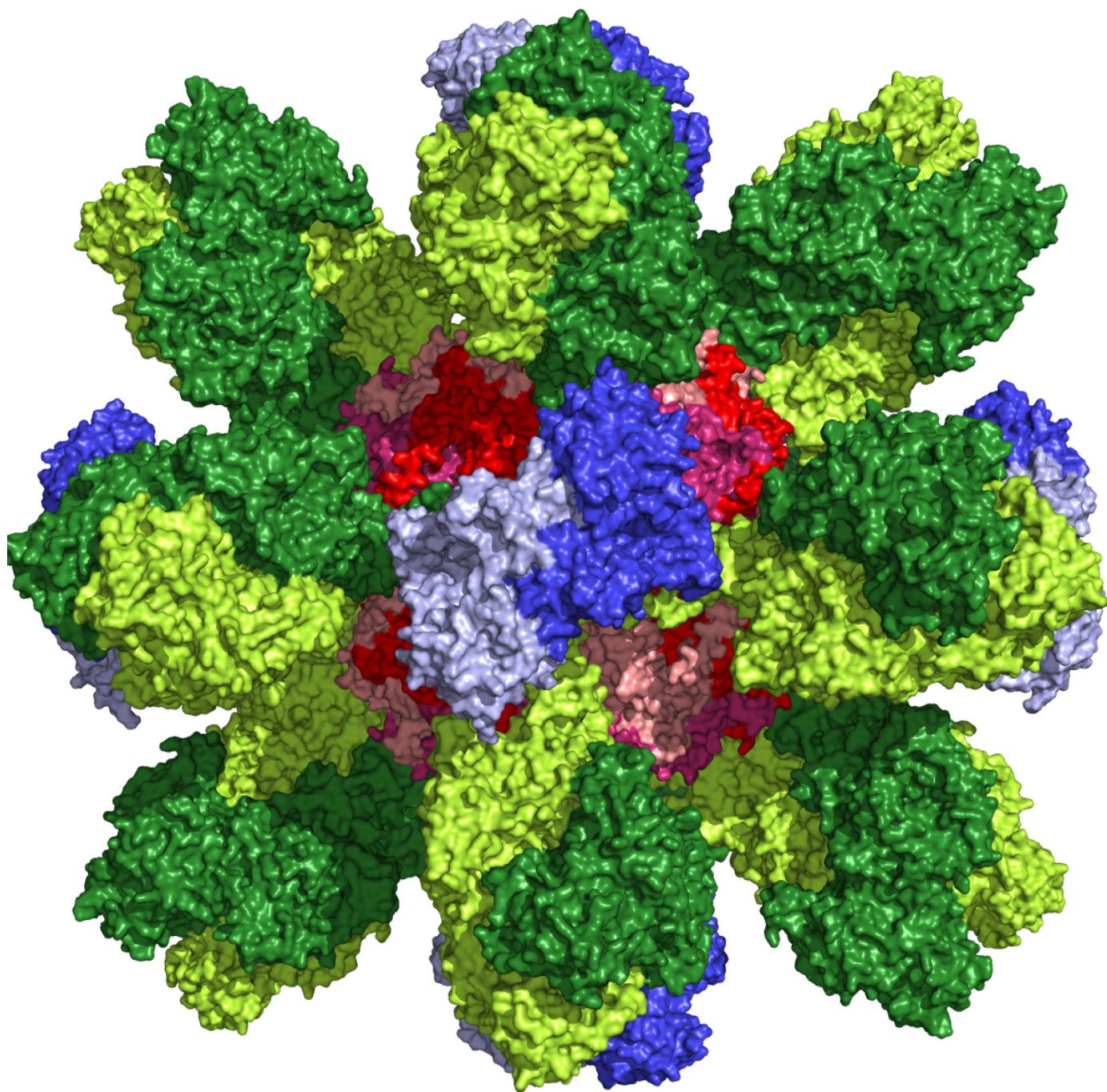


BIOKÉMIA

A Magyar Biokémiai Egyesület internetes folyóirata

XLVII. évfolyam 1. szám

2023. 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:

Nyitray László (PhD disszertációk bemutatása) és
Sarkadi Balázs (Áttekintő közlemények)

Technikai szerkesztő:

Bérdi Péter
berdipeter@gmail.com

XLVII. ÉVFOLYAM 1. SZÁM

2023. március

TARTALOMJEGYZÉK

Címlapkép: A humán α -ketoglutarát-dehidrogenáz enzimkomplex javasolt szerkezeti topológiája. Az E1-alegységek világos- és sötétzöld, míg az E3-alegységek világos- és sötétkék színekkel kerültek feltüntetésre. Az E2-alegységekből alkotott belső (mag)szerkezetben az egyes láncok rózsaszín, lila és piros színűek (lásd Wittinger és társai írását, 25. oldal).

SZERKESZTŐI ROVAT

A Biokémia újság legjobb tudományos cikke díj nyertese 2022-ben 4.

AKIKRE BÜSZKÉK VAGYUNK

Kitüntetések, díjak 5.

Csorba Zsóka, Dénes Laura, Emődi Nikolett, Golarits Ágnes,
Nyíri Márton Péter: A rák más megvilágításban - magyar hallgatói siker a
nemzetközi iGEM versenyen 6.

REVIEW

Wittinger Soma, Szabó Eszter, Ambrus Attila: A mitokondriális
 α -ketosav-dehidrogenáz enzimkomplexek működése, szerkezete és
Szabályozása 19.

TUDOMÁNYOS CIKK

Laposa Zsófia, Keszei Ernő: Palackozott borok eltarthatósága a megvilágító
fény és a palack anyagának függvényében 32.

ÁTTEKINTŐ KÖZLEMÉNYEK AZ MBKE TAGJAINAK TOLLÁBÓL

Felhívás 54.

Lista 55.

Közlemények 56.

PHD DISSZERTÁCIÓK BEMUTATÁSA

Felhívás 59.

Annus Tamás: Emberi betegségek zebradánió modelljei 60.

Földi Mátyás Csaba: A riluzol hatásmechanizmusának vizsgálata
fotoaktiválható riluzol-analóg segítségével 65.

Szeder Bálint: A Tks4 állványfehérje szerepe az epitheliális-mezenchimális átmenetben és az adipogén differenciációban	72.
A 2022. ÉVBEN MEGJELENT KIEMELKEDŐ KÖZLEMÉNYEK LISTÁJA	79.
KONFERENCIA HIREK	
52. Membrán-Transzport Konferencia, Sümeg	88.
Peptidkémiai Munkabizottság Ülése, Balatonszemes	90.
AKTUALITÁSOK	
Prof. Szöllősi János és Prof. Szabó Gábor köszöntése 70. születésnapjuk Alkalmából	92.
NEKROLÓG	
Elhunyt Gráf László professzor úr	97.



Békés, meghitt 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)

A BIOKÉMIA ÚJSÁG LEGJOBB TUDOMÁNYOS CIKKE DÍJ

Amint arról a Biokémia folyóirat XLVI. ÉVFOLYAM 2. számában (2022. június) beszámoltunk, a Magyar Biokémiai Egyesület egy díjat alapított, mellyel a Biokémia folyóiratban egy adott évben megjelent, legkiemelkedőbbnek és legérdekesebbnek tartott tudományos cikket jutalmazza. A díj pénzjutalommal is jár (2022-ben 150.000 Ft), ezzel is ösztönözve elsősorban a fiatalokat tudományos közlemények beküldésére.

A Biokémia újság legjobb tudományos cikke díj nyertese 2022-es évben:

Bánóczy Zoltán: Hatóanyagok sejtbejuttatása peptidekkel – hatékony sejtpenetráló peptidek fejlesztése

https://www.mbkegy.hu/apps/mbkegy/resources/biokem/2022/2022_03.pdf

Gratulálunk a győztesnek!

Várjuk az új közleményeket!

A Biokémia szerkesztőbizottsága

**AZ MBKE TAGJAINAK ELISMERÉSEI
2022. DECEMBER 15. ÉS 2023. MÁRCIUS 15. KÖZÖTT**

Venetianer Pál, az SZBK Biokémiai Intézet emeritus kutatóprofesszora az MTA Szegedi Akadémiai Bizottságának idei **Pro Scientia életműdíját** kapta a hosszú időn át végzett tudományos tevékenysége, iskola- és értékteremtő munkássága elismeréseként.

Az MTA főtitkára a tudományos élet területén dolgozó fiatal kutatók eredményeinek elismerésére létrehozott **Akadémiai Ifjúsági Díjban** részesítette az MBKE tagjai közül:

Petővári Gábort, a Semmelweis Egyetem Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet kutatási munkatársát „Különböző szubtípusú emlő-daganat-sejtvonalak és humán biopsziás minták mTOR és metabolikus jellemzése” című pályamunkájáért,

Tálas Andrást, a Természettudományi Kutatóközpont Enzimológiai Intézet tudományos munkatársát „Módszerek a génszerkesztés hatékonyságának növelésére” című pályamunkájáért.

Gratulálunk a kitüntetetteknek!

A RÁK MÁS MEGVILÁGÍTÁSBAN - MAGYAR HALLGATÓI SIKER A NEMZETKÖZI iGEM VERSENYEN

***Csorba Zsóka, Dénes Laura, Emődi Nikolett,
Golarits Ágnes, Nyiri Márton Péter
Eötvös Loránd Tudományegyetem és Budapesti Műszaki és
Gazdaságtudományi Egyetem, Biotechnológus mesterszak***

iGEM, a szintetikus biológia mozgalma

Az iGEM (internationally Genetically Engineered Machine) nemzetközi verseny és a szintetikus biológia története szorosan összefonódik. A versenyt a tudományterület úttörői – többek közt Tom Knight és Randy Rettberg – alapították húsz évvel ezelőtt, és azóta évente több ezer lelkes fiatal középiskolást és hallgatót szólít meg [1].

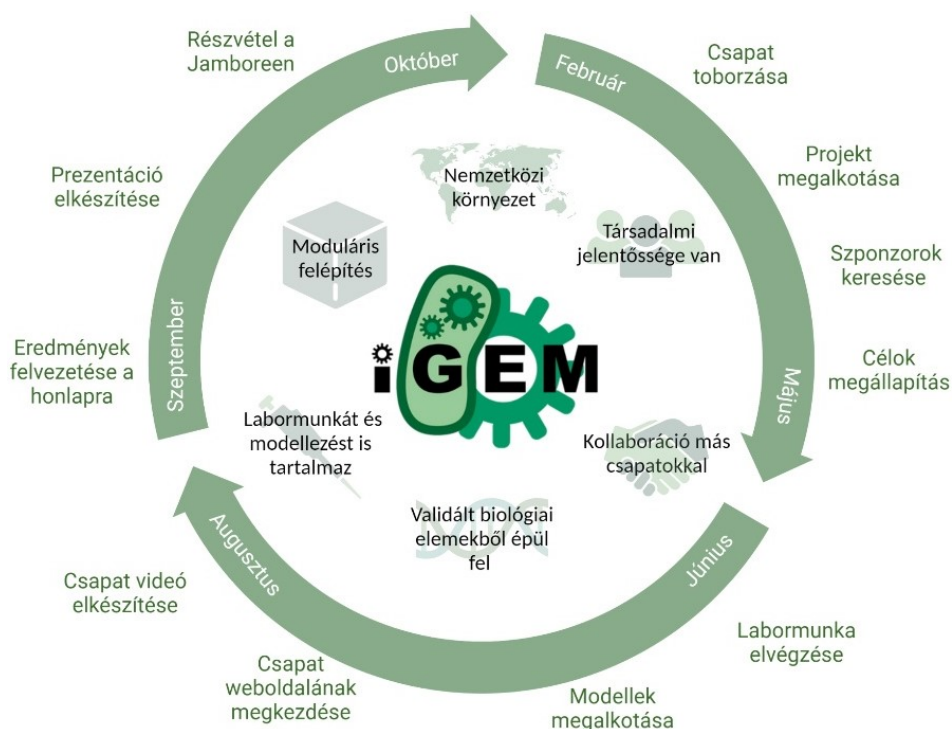
Tom Knight és Randy Rettberg villamosmérnökök voltak, akik figyelmét felkeltették a biológiai rendszerek. A két kutató felismerte, hogy élőlények genetikai módosításához jól definiált funkcióval rendelkező, DNS által kódolt „alkatrészeket” alkalmazunk. Mérnöki megközelítéssel élve ezekből szabványosított alkotóelemeket (ún. BioBricks-eket) kívántak létrehozni, azzal a céllal, hogy ahogyan az elektronikai áramkörök esetében is tehették, könnyedén tervezhessenek és építhessenek össze funkcionalitással bíró komplex rendszereket.

Ezt a génmódosítást nagymértékben egyszerűsítő megközelítést 2003-ban publikáltak, mely az iGEM kiindulópontjának tekinthető [2]. Az MIT-n (Massachusetts Institute of Technology) tevékenykedő Gerald Sussman elektrotechnika professzorral léptek együttműködésre, és csatlakozása nyomán vonták be munkájukba az egyetem hallgatóit. Számukra rendezték meg először a versenyt már a publikáció megjelenésének évében, hogy ki tud ezen alkotórészekből érdekesebb módosított szervezetet összeállítani. Mára a verseny 46 országból 350 csapatot mozgat meg évente, és így a hallgatók ötletein keresztül is mozdítja előre a szintetikus biológiát.

A verseny felépítése

Napjainkban a diákok az elmés mérnöki megoldásokon túl, számukra fontos, leginkább társadalmunkat, környezetünket érintő lokális problémákra keresik a választ a szintetikus biológiai eszközeivel. Mindeközben az önálló laboratóriumi munkában és a csapatban való együttműködésben is nagy tapasztalatot szereznek.

Erre az iGEM szervezői maguk is ösztökélik a csapatokat, hisz nem csupán a biológiai megoldásokat díjazzák, hanem számos más szempontból is jeleskedniük kell a résztvevő hallgatóknak. Ezek közül az egyik legfontosabb az ún. Human Practice, melynek keretein belül meg kell vizsgálniuk, hogy a megalkotott rendszer elfogadható-e a későbbi felhasználók és az egész társadalom számára. Emellett fontos, hogy az induló csapatok között együttműködések alakuljanak ki, és ily módon egymást segítsék a projektek megvalósításában, nemzetközi kapcsolatok építésében is fejlődési lehetőséget nyújtva a résztvevőknek.



1. ábra Az iGEM versenyszezon felépítése. Az iGEM versenyszezon az ötletek megalkotásával és a csapatok kialakításával kezdődik. Erre május végéig van lehetőség, mivel a nyári folyamán kell megvalósítani a tervezett projektet. Ősszel a projekt befejezése mellett a csapatoknak létre kell hozniuk egy honlapot (az ún. Wiki oldalt), melyen feltüntetik az összes elért eredményüket, mely alapján díjazzák leginkább a bírák a csapatokat. Végül a verseny befejezéseként a résztvevő hallgatók egy közös, úgynevezett Grand Jamboree-n találkoznak, ahol megismerhetik egymást és az elkészült projekteket.

A verseny során a csapatoknak különböző mérföldköveket kell elérniük és ezek teljesítésével szerezhetik meg a bronz, ezüst vagy arany minősítést. Ahhoz, hogy egy csapat arany minősítésben részesüljön, kiemelkedő teljesítményt kell felmutatni több területen is. A csapatnak be kell mutatnia, hogy hogyan integrálja a biológiai megoldásába a kapott visszajelzéseket, használja és fejleszti tovább az iGEM adatbázisában található alkatrészeket, modellezi a létrehozott biológiai rendszert, működik együtt más csapatokkal, és hogyan vesz részt a tudomány népszerűsítésében és az oktatásban.

Az ELTE iGEM Csatának története

Az iGEM nemzetközi népszerűsége ellenére hazánkban kevésbé ismert, és néhány kiváló eredmény ellenére – melyeket leginkább középiskolai csapatoknak köszönhattunk az elmúlt években – nem igen találkozhattunk magyar indulókkal. Mi magunk is a Szegedi Radnóti Miklós Kísérleti Gimnázium csapatainak sikere nyomán hallottunk először a versenyről még évekkel ezelőtt, de csak azután ismertük meg igazán, mikor érdeklődésünk a szintetikus biológia felé fordult [3].



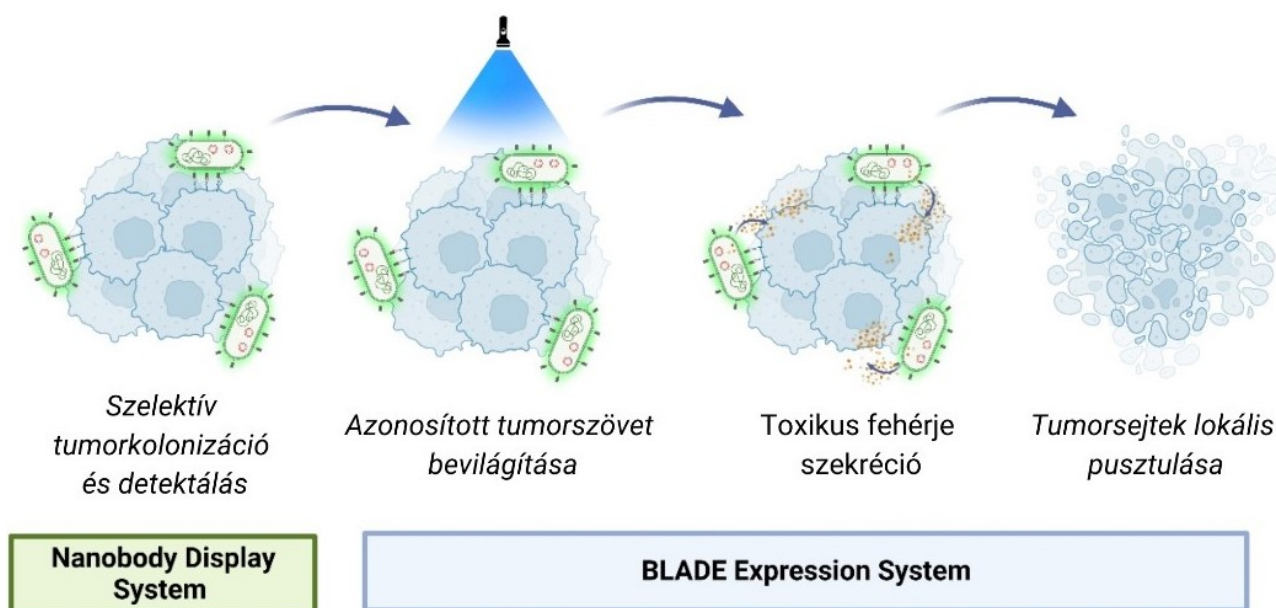
2. ábra. Az ELTE iGEM versenyen elindult „Team ELTE” hallgatói csapata. Résztvevők balról-jobbra haladva: Nyiri Márton Péter, Emődi Nikolett, Englert Dóra Fanni, Király Laura, Csorba Zsóka, Biró Adrienn, Dénes Laura, Kapui Dóra, Golarits Ágnes.

Az Eötvös Lóránd Tudományegyetem és a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem által közösen indított Biotechnológia mesterképzés hallgatóiként igen közel állt hozzánk a terület, és megfogalmazódott bennünk az ötlet és igény, hogy magunk is részt vegyünk rajta. A „Team ELTE”, avagy kilenc fős csapatunk gerincét a képzés hallgatói szolgáltatják, de már a kezdetekkor biomérnök, illetve egészségügyi mérnök mesterszakos hallgatók is csatlakoztak hozzánk.

Alulról jövő kezdeményezésünket egyetemünk vezetése és oktatói (Dr. Kacs Kovics Imre, az ELTE TTK dékánja, a biotechnológia mesterképzés alapítója, szakmai mentorként Dr. Nyitray László, az ELTE Biokémiai Tanszék korábbi vezetője), valamint a Richter Gedeon Nyrt. Biotechnológia Üzletága (Dr. Bogsch Erik és Dr. Urbányi Zoltán) a kezdetektől felkarolta, és mind szakmailag, mind pénzügyileg támogatta indulásunkat.

NanoBlade – baktérium alapú, fényre aktiválható, célzott tumorterápia

A különböző rákos megbetegedések, köztük a szolid tumorok kialakulása a vezető halálokok között van világszerte. A betegség prognózisára számos faktor negatívan hat: (1) az immunrendszer csökkent aktivitású a tumorkörnyezetben, (2) a napjainkban alkalmazott kemoterápiás szerek nem képesek hatékonyan eljutni a vérárammal a tumor belsőbb, hipoxiás rétegeibe [4, 5], (3) hiányoznak a betegséget korai fázisában diagnosztizáló eszközök [6]. Csatatunk ezen problémákra kívánt megoldást találni, és tervezte meg a NanoBlade-et, egy baktérium alapú, fényre aktiválható, célzott tumorterápiás eljárást.

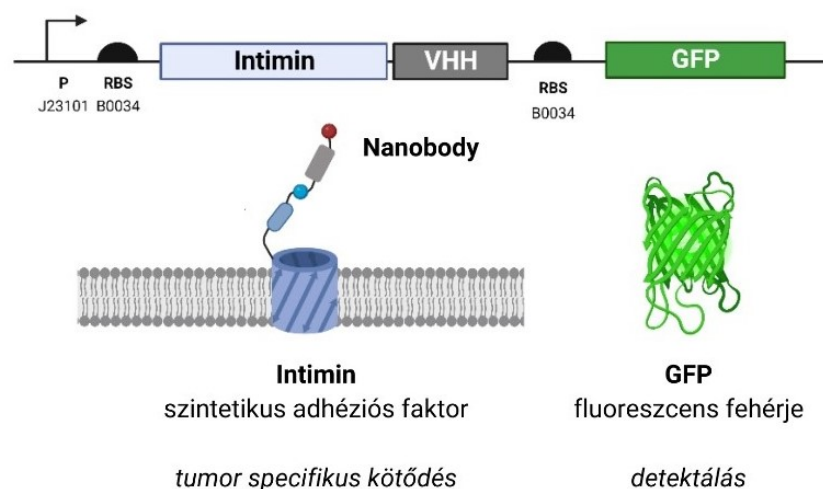


3. ábra. A NanoBlade célzott, fényreaktíváló tumorterápia elképzelt működési elve. Nanobody Display System: Diagnosztikus funkcióért és tumor szelektív adhéziónak felelős rendszer; BLADE Expression System: Fényre aktiválható hatóanyag leadó rendszer.

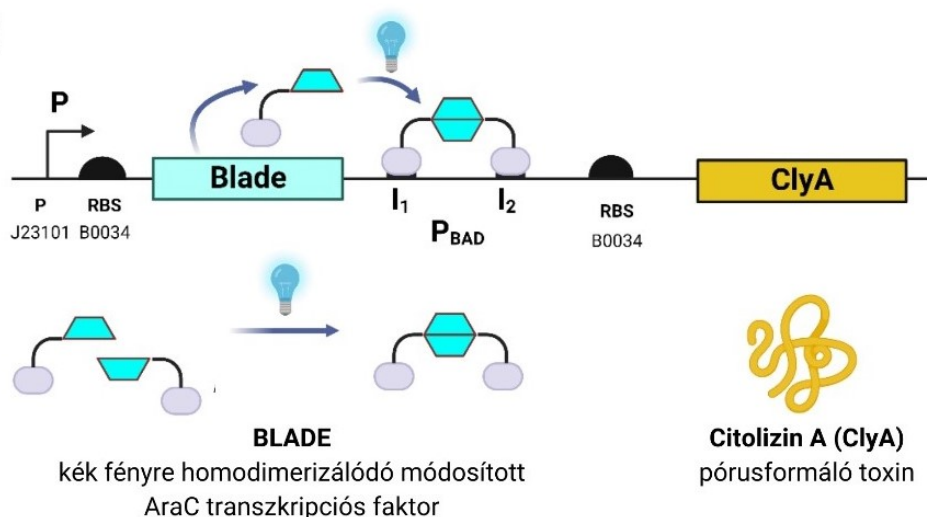
Közel 100 éve vizsgálják baktériumok tumorterápiában való alkalmazását, lévén, hogy az obligát, illetve fakultatív anaerob törzsek hatékonyan képesek szaporodni és kolonizálni az immunszuppresszív, hipoxiás tumorszöveteket [7]. Ugyanakkor, míg régebben a baktériumok inherens anti-tumor hatásuk miatt kerültek előtérbe, manapság egyszerű genetikai módosíthatóságuk révén övezi

őket figyelem. Segítségükkel a tumorkörnyezetbe juttathatunk, termeltethetünk lokálisan terápiás hatású vegyületeket (pl. bakteriális toxinokat, Nanobody-kat), melyek szisztémás adagolás esetén könnyedén degradálódnának a véráramban vagy igen toxikus hatásúak lehetnek [8]. Tény, hogy ilyen módszert még nem alkalmaznak a klinikumban, de számos baktériumalapú tumorterápia áll klinikai tesztelés alatt [9]. A NanoBlade-del ezen előnyös tulajdonságokra kívántunk építkezni, egy tumordiagnosztikát és tumorterápiát egyaránt segítő módszert létrehozva. Csapatunk ezt két különálló (plazmidalapú) rendszeren keresztül kívánta megvalósítani.

A)



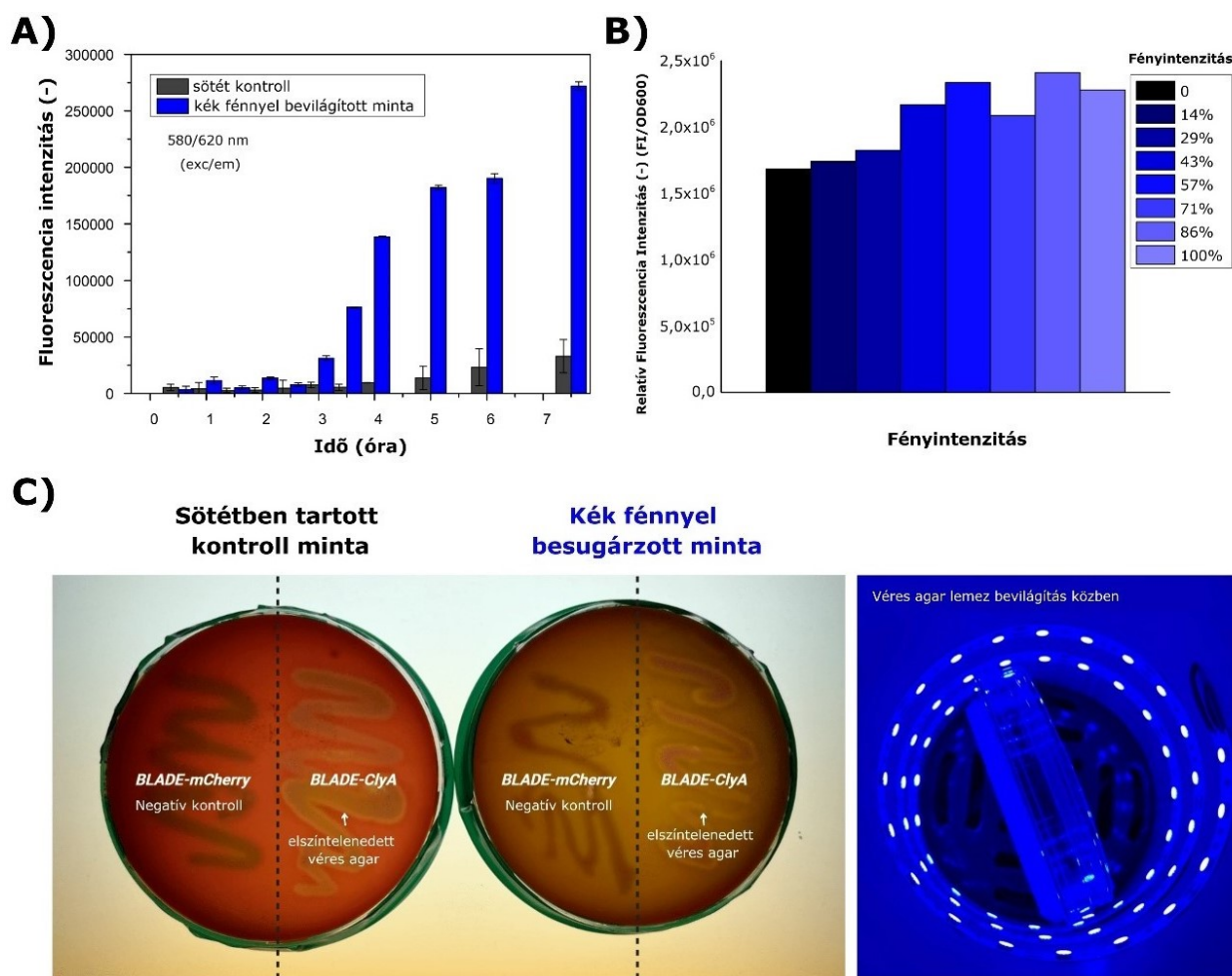
B)



4. ábra. A NanoBlade-t alkotó genetikai konstrukciók felépítése. A) Nanobody Display System, B) BLADE Expression System.

A tumordiagnosztikát lehetővé tevő Nanobody Display System segítségével a baktérium felszínén egy kisméretű (15 kDa), Nanobody (egy doménes antitest) fehérjét kívántunk kifejezni, mely szelektíven képes rákos sejteken nagy

kópiaszámban kifejezett molekulákhoz kötődni, ami segíti a tumorkolonizációt. A mi esetünkben ezek az EGFR (epidermális növekedési faktor receptor) és a CEA (carcino-embriónális antigén) terápiás célpontok voltak. A tumorszövet szervesen belüli elhelyezkedése pedig a rendszer által kifejezett fluoreszcens GFP (Green Fluorescent Protein) molekulák által válik azonosíthatóvá. Ehhez a Pinero-Lambea és mtsi munkáját használtuk fel, de később ezt továbbfejlesztve egy rekombináns DNS konstrukcióban ötvöztük a sejt specifikus adhéziora való képességet és detektálást, egy kompaktabb rendszert létrehozva [10]. Ezt a konstrukciót MiniNano Display System névre kereszteltük. A rendszer lényege, hogy a baktérium a rákos sejtekhez kötődik, ott elszaporodik és fluoreszcens fehérjét expresszál, így láthatóvá válnak a daganatos sejtek.



5. ábra. A BLADE Expression System karakterizálása. A) Kék fény hatására (~450 nm) indukált fehérjetermelés nyomon követése mCherry fluoreszcenciájának detektálásán keresztül, összehasonlítva a sötétben tartott mintával. **B)** A fényintenzitás hatásának vizsgálata az mCherry termelésre (4 óra eltérő kék fényintenzitáson (0-100%) történő bevilágítás után, 37°C-on). **C)** Kék fény hatására termelt citolizin A biológiai aktivitásának mérése véres agar lemezen. Negatív kontroll: mCherry-t kifejező baktérium. Bal oldali kép: Véres agar lemezekről készült kép felvétel (4 óra kék fény bevilágítás vagy sötétben tárolás után, 37°C-on). Jobb oldali kép: A kék fényel besugárzott agar lemez a besugárzás közben, melyet a 6. A) ábrán látható készülékkel végeztünk.

Az L-arabinózzal indukálható arabinóz-operon napjaink egyik gyakran használt prokarióta expressziós rendszere (AraBAD), melyet Barbara Di Ventura kutatócsoportja emelt át az optogenetika eszköztárába, és tette arabinóz helyett kék fénnel aktiválhatóvá [11]. A transzkripciós faktor (AraC) arabinózkötő doménjét cserélték le egy kék fény (460 nm) hatására dimerizálódó doménre (VVD, Vivid), így a fehérjetermelés kiválóan szabályozható térben és időben, nem káros fénybevilágítás hatására. A NanoBlade terápiás hatásáért felelős BLADE Expression System is erre épül, egy kék fényre aktiválható, genetikailag kódolt hatóanyag leadó rendszert képezve. A rendszer segítségével egy pórusformáló bakteriális toxint, citolizin A-t (ClyA) juttathatunk a tumor-környezetbe, mely képes a rákos sejtek lokális elpusztítására [13].

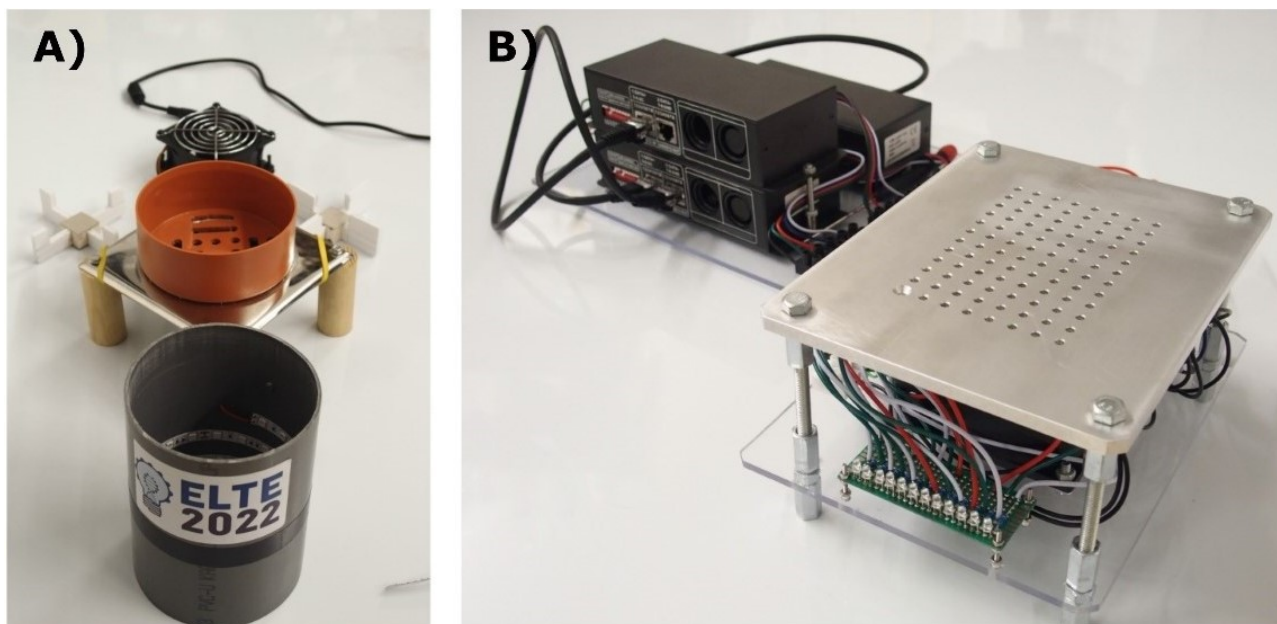
Az elvégzett munka és eredmények

Tavasszal terveztük meg projektünket, mind a genetikai konstrukciók, mind a teszteléshez szükséges kísérletek tekintetében. A nyáron következett ezek megvalósítása, melyet főként önállóan, időnként szakértők bevonásával végeztük. Végül, az eredményeinket az ősszel leadásra kerülő Wiki oldalunkon összegeztük.

A terápiás hatásért felelős, kék fényre indukálható BLADE expressziós rendszert kódoló plazmidokat sikerrel állítottuk elő és vittük be a módosítani kívánt és fehérjetermelésre széleskörűen használt *Escherichia coli* BL21 baktérium-törzsbe. A rendszert többszörösen kívántuk karakterizálni, de elsőképp a fényaktiválható fehérje termelődést akartuk jobban megismerni, modellezni. Ehhez a toxin helyett egy fluoreszcens mCherry fehérjét termeltünk, időben könnyen nyomon követhetővé téve a folyamatot. A termelés időbeli változását, illetve a fénybevilágítás intenzitásától való függését is vizsgáltuk. Az eredmények azt mutatták, hogy valóban sikerült kék fény hatására fehérje expressziót indukálnunk a sötétben tartott kontrollhoz képest, melyre a fényintenzitás is befolyással bír, ugyanakkor az aktiválás mértéke jelentősen elmaradt az irodalom alapján várttól. Az e mögött álló ok felderítésére nem állt rendelkezésre időnk, így áttértünk a citotoxikus fehérje vizsgálatára. Ennek termelődését SDS-PAGE gélelektroforézissel vizsgáltuk, míg biológiai aktivitását véres agar teszt alapján értékeltük, hisz a ClyA képes lizálni emlős sejteket [12]. A lemezeken egyértelműen láthattuk a hemolízist jelző elszíneződést az mCherry-hez (kontroll) képest, ám sajnálatunkra a sötétben tartott és bevilágított minták közt nem tapasztaltunk különbséget. A gélfuttatása is hasonló eredménnyel zárult, így számos kérdést kellene még megválaszolnunk

rendszerünkkel kapcsolatban, mielőtt azt esetleg állatkísérletekben is tesztelni lehetne.

A Nanobody Display System-et hordozó plazmidokat a rendelkezésre álló rövid idő alatt (2 hónap) nem sikerült előállítanunk. Ebből fakadóan nem tudtuk gyakorlatban is tesztelni a koncepciókat, azonban problémamegoldó képességeink bizonyosan jelentősen fejlődtek a molekuláris biológia területén.



6. ábra. A verseny során fejlesztett bevilágítási hardver eszközök. A) Az első, nem programozható baktérium kultúrák bevilágítására alkalmas készülék. **B)** RaccOpto – programozható eszköz (bevilágítási idő, fényintenzitás), ami 96 lyukú sejtenyésztő lemez bevilágítására készült.

Ugyanakkor legnagyobb sikerünk azon bevilágító rendszerek megalkotása volt, amelyekkel a kék fényre aktiválható fehérje expressziós rendszert tesztelhattük (6. ábra). Mindkét eszköz előnye a korábbi irodalmi példákkal ellentétben, hogy könnyen és olcsón elkészíthetők voltak, az alkatrészek kereskedelmi forgalomból pótolhatók, illetve összeállításuk kifejezett szakértelmet sem igényelt. Az eszközök LED alapúak, és míg az első eszköz esetében a szabályozás manuális volt, a második eszközünk már programmal volt irányítható. A RaccOpto, 96-lyukú lemezre tervezett eszközünk egy alumínium lemezből, egy ventilátorból és 96 db LED-ből állt, melyek oszloponkénti vagy soronkénti világításprogramját egy speciális dimmer-kapcsoló szabályozza időben és intenzitásban.

A tudományos munka csupán egy szűk szelete a csapatok elé állított

kihívásoknak, így egy sor más tevékenységet is folytattunk. A korábban említett Human Practice keretében vizsgáltuk formálódó projektünket szocio-ökonómiai szempontból. Ennek első lépéseként egy kérdőívet készítettünk, amiben megpróbáltunk felmérni, hogy a kitöltők milyen tudással rendelkeznek a genetikailag módosított élőlényekről és a GMO-alapú terápiákról (Genetically Modified Organisms), hisz a NanoBlade is e területhez sorolható. Összességében nem tapasztaltunk nagyfokú ellenállást a GMO-alapú terápiákkal kapcsolatban, viszont a válaszadók hiányos GMO-kal kapcsolatos tudása tetten érhető volt. Ezért oktatási tevékenységet szerveztünk, és részt vettünk az ELTE Kutatók Éjszakája programsorozaton, ahol érdekes és izgalmas állomásokkal készültünk a látogatók számára. Továbbá, a kérdőív segítségével azt is sikeresen felmértük, hogy a potenciális végfelhasználók részéről milyen aggályok merülhetnek fel a termék felhasználásával kapcsolatban. Ezeket megismerve felkerestünk olyan kutatókat, akik az általunk vizsgált témakörökkel foglalkoznak, és kikértük a véleményüket, hogyan lehetne a projektünk még biztonságosabb és hatékonyabb.

Ahogy a tudományos életben, az iGEM-en is kiemelkedő szerepe van a csapatok közötti együttműködéseknek. A verseny során összesen kilenc csapattal működtünk együtt különböző feladatok mentén, valamint egy kelet-európai „mini” konferencia megszervezését is vállaltuk. A verseny talán egyik legkiemelkedőbb élménye mégis az volt, amikor ezekkel a csapatokkal személyesen is tudtunk találkozni az októberben, Párizsban megszervezett Grand Jamboree-n.

Grand Jamboree – egy tudományos „fesztivál”

A „Grand Jamboree” az iGEM versenyt hagyományosan lezáró nagyszabású konferenciarendezvény, mely során a csapatok nem csak bemutatják projektjüket a bírálóknak, de a versenyző csapatok is találkozhatnak egymással. Az eseményt Párizsban, a Paris Expo nevű helyszínen rendezték meg. Ez volt az első alkalom, hogy a Jamboree-t nem Bostonban tartották. Ezt hároméves előkészület előzte meg, hisz a pandémia miatt az előző években nem volt lehetőség a személyes találkozóra. Ugyanakkor a hosszú előkészület a rendezvény magas színvonalát vonta maga után, és a háromnapos eseményen összesen 3500 versenyző vett részt a világ 45 országából.

Csapatunk a konferencia első napján zárt körben, egy hattagú zsűrinek adta elő prezentációját. A helyszínen 14 szobában zajlottak párhuzamosan az előadások, és tizenöt perc állt rendelkezésünkre, hogy nemcsak mérési eredményeinkről

számoljunk be, de azokról a szempontokról is, amelyek tovább formálták ötletünket. A bírák ezután számos kérdéssel mérték fel a választott témában szerzett jártasságunkat, és érdeklődésük kiterjedt a projektünk későbbi implementációjára is.



7. ábra. Élményképek a „Grand Jamboree”-ről. A hatalmas rendezvényhelyszínen minden arra volt kihegyezve, hogy a versenyzők minél könnyebben megismerjék egymást. Minden versenykategória egy saját „faluban” (angolul: villages) állíthatta fel standját, mely egy kiállító asztalból, illetve egy monitorból állt, amelyre a csapatok posztereiket vetíthették ki. Ez valóban városkára emlékeztetett, megteremtve a baráti légkört. (Fotó: Englert Fanni)

A Jamboree második napjának középpontjában a közösségépítés állt. Lehetőségünk nyílt meglátogatni más csapatok standjait, ahol gyakran kisebb tömegek gyűltek össze és hosszú beszélgetések is kialakultak. Itt a résztvevők meg tudták osztani a verseny során szerzett tapasztalataikat, valamint elgondolkoztató kérdésekkel és innovatív ötletekkel segíteni egymás további munkáját.

A konferencia a versenyzők személyes, illetve projektjük további fejlődését is segítette. Betekintést nyerhettünk az iGEM versenyt támogató szervezetek által

nyújtott lehetőségek tárházába (pl. IDT, a Beckman Coulter vagy az FBI), valamint megismerhettük a startup cégek világát is. Workshop-okon gazdagíthattuk ismereteinket (megközelítőleg 60 kurzuson vehettünk volna részt), és szakértők által tartott előadások inspirációt nyújtottak arra, hogy a szintetikus biológia hogyan válhat mindennapi eszközzé és tudhat megoldást biztosítani regionális és globális problémákra.

Ezt a napot ismét egy, már kötetlenebb prezentáció zárta. Minden „faluhoz” tartozott egy ún. Pláza színpad, melyen lehetőségünk volt a NanoBlade-ről és annak megvalósításához vezető útról beszélni egy nyílt előadás keretében. A konferencián megismert résztvevők, kollaborációs csapatok és bírálók mind a hallgatóságot erősítették, ezzel is támogatva minket.

Az esemény csúcspontjának mégis az eredményhirdetés bizonyult. Egy hatalmas színpad előtt együtt izgult és ünnepelt több ezer fiatal, akik közel egy év fáradhatatlan munkájának eredményét koronázták meg ezzel. Meghatározó élmény volt számunkra részese lenni ennek a közösségnek és látni, hogy a közös érdeklődés a szintetikus biológia iránt és a környezetünk segítése minden résztvevőnek egyaránt szívügye.

A díjak kiosztása a korcsoportok (Overgrad, Undergrad és High School), valamint a 12 kategória szerinti besorolás alapján zajlott. Minden csapat izgatottan várta, ki lesz a korcsoportjában a fődíj, azaz a „Grand Prize” elnyerője. A mi kategóriánkban (Overgrad) ezt a dán, Uopenhagen csapat érdemelte ki. Ők a tengerekben és óceánokban visszamaradó halászhálók okozta természeti károk orvosolását tűzték ki célul. A legjobb terápiás projekt díját pedig a svájci Uzurich csapata nyerte el egy hozzánk hasonló terápiás baktériummal. Csapatuk *Escherichia coli*-ban gyulladásos bélbetegségek (Crohn-betegség, IBD) kezelésére tumor nekrosis faktort neutralizáló Nanobody-kat termeltettek.

Különdíjakkal jutalmazták azokat a csapatokat is, amelyek a verseny egy-egy aspektusában kiemelkedően teljesítettek. Habár csapatunk különdíjjal nem gazdagodott, a bírálatok alapján a Wiki oldalunk, az általunk fejlesztett hardvare és edukációs tevékenységünk magas színvonalú lett. A Wiki oldalunk, s rajta minden eredményünk az alábbi linken megtekinthető: <https://2022.igem.wiki/elte/index.html>.

Végül a verseny zárásaként kihirdették azoknak a csapatoknak a listáját, akik érmet szereztek. Ennek elbírálása az alapján zajlott, hogy a kitűzött mérföldkövekből az egyes csapatok mennyit tudtak elérni. A 25 szempontot tartalmazó pontozási listát az ELTE csapata majdnem maradéktalanul sikeresen teljesítette, ezzel kiérdemelve az **arany minősítést!**

Tapasztalatok

A versenyen való részvétel csapatunk számára egyedülálló élményt nyújtott. Magyarország képviselete mellett büszkék lehettünk az elért eredményeinkre is, hisz sikerült megállnunk a helyünket más, sokkal tapasztaltabb csapatok közt.

Az iGEM során nemcsak a tudományos kísérletek tervezése és elvégzése a cél, hanem olyan képességek elsajátítása is, mint az önálló munkavégzés vagy a csapatmunka megfelelő szervezése, és hatékony kommunikáció társainkkal. Mégis talán az a legértékesebb, hogy megtapasztaltuk, az elmúlt éveket olyan tudás megszerzésével töltöttük, mellyel megoldást találhatunk közösségünket érintő valós problémákra. Ezen felül más csapatokkal kialakított kapcsolataink a későbbi szakmai pályafutásunk során előnyösek lesznek.

A verseny ugyan rengeteg energiával, idővel és elköteleződéssel járt, azonban ezeket mind pótolja a megszerzett tapasztalat és a sok élmény. Az ELTE-t elsőként képviselő csapat tagjai minden tekintetben sokat fejlődtek az együtt töltött munka idején, és reméljük, hogy más hallgatók érdeklődését is felkeltettük akár a versennyel, akár a szintetikus biológiával, de leginkább azzal kapcsolatban, hogy merjék keresni és megragadni az őket körülvevő építő lehetőségeket. Mindenesetre Csapatunk egyik fő célja, hogy kezdeményezésünket más hallgatók folytassák, és tudásunkkal a következő Csapat indulását támogathassuk.

Irodalomjegyzék

- [1] Kahl, L. (2019) What is iGEM? (part 3) – Insights from iGEM's History. *IGEM Blog* (Link: <https://blog.igem.org/blog/2019/9/18/what-is-igem-part-3>).
- [2] Knight, T. (2003) Idempotent Vector Design for Standard Assembly of Biobricks. *MIT Artificial Intelligence Laboratory* (Link: <http://dspace.mit.edu/handle/1721.1/21168>).
- [3] A Szegedi Radnóti Miklós Kísérleti Gimnázium 2021-ben induló csapatának (SZTA RMG Szeged) honlapja (Link: <https://2021.igem.org/Team:SZTA>).

[RMG Szeged](#)).

- [4] Huang, J., Yang, B., Peng, Y., Huang, J., Wong, S.H.D., Bian, L., Zhu, K., Shuai, X., Han, S. (2021) Nanomedicine-Boosting Tumor Immunogenicity for Enhanced Immunotherapy. *Advanced Functional Materials*, **31 (21)**: 2011171.
- [5] Hompland, T., Fjeldbo, C.S., Lyng, H. (2021) Tumor Hypoxia as a Barrier in Cancer Therapy: Why Levels Matter. *Cancers*, **13(3)**: 499.
- [6] Siegel, R.L., Miller, K.D., Fuchs, H.E., Jemal, A. (2022) Cancer Statistics, 2022. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **72 (1)**: 7–33.
- [7] Coley, W.B. (1893) The treatment of malignant tumors by repeated inoculations of erysipelas: with a report of ten original cases. *The American Journal of the Medical Sciences* **105**: 487–510.
- [8] Riglar, D.T., Silver, P.A. (2018) Engineering Bacteria for Diagnostic and Therapeutic Applications. *Nature Reviews Microbiology*, **16 (4)**: 214–225.
- [9] Brennan, A.M. (2022) Development of Synthetic Biotics as Treatment for Human Diseases. *Synthetic Biology*, **7(1)**: ysac001. doi: 10.1093/synbio/ysac001. eCollection 2021.
- [10] Piñero-Lambea, C., Bodelón, G., Fernández-Periáñez, R., Cuesta, A. M., Álvarez-Vallina, L., Fernández, L.Á. (2014) Programming Controlled Adhesion of E. Coli to Target Surfaces, Cells, and Tumors with Synthetic Adhesins. *ACS Synthetic Biology*, **4 (4)**: 463–473.
- [11] Romano, E., Baumschlager, A., Akmeriç, E.B., Palanisamy, N., Houmani, M., Schmidt, G., Öztürk, M.A., Ernst, L., Khammash, M., Di Ventura, B. (2021) Engineering AraC to Make It Responsive to Light Instead of Arabinose. *Nature Chemical Biology* **17 (7)**: 817–827.
- [12] Murase, K. (2022) Cytolysin A (ClyA): A Bacterial Virulence Factor with Potential Applications in Nanopore Technology, Vaccine Development, and Tumor Therapy. *Toxins*, **14 (2)**: 78.

A MITOKONDRIÁLIS α -KETOSAV-DEHIDROGENÁZ ENZIMKOMPLEXEK MŰKÖDÉSE, SZERKEZETE ÉS SZABÁLYOZÁSA

Wittinger Soma¹, Szabó Eszter², Ambrus Attila²

¹*Egis Gyógyszergyár Zrt.,*

²*Semmelweis Egyetem, Biokémiai Tanszék*

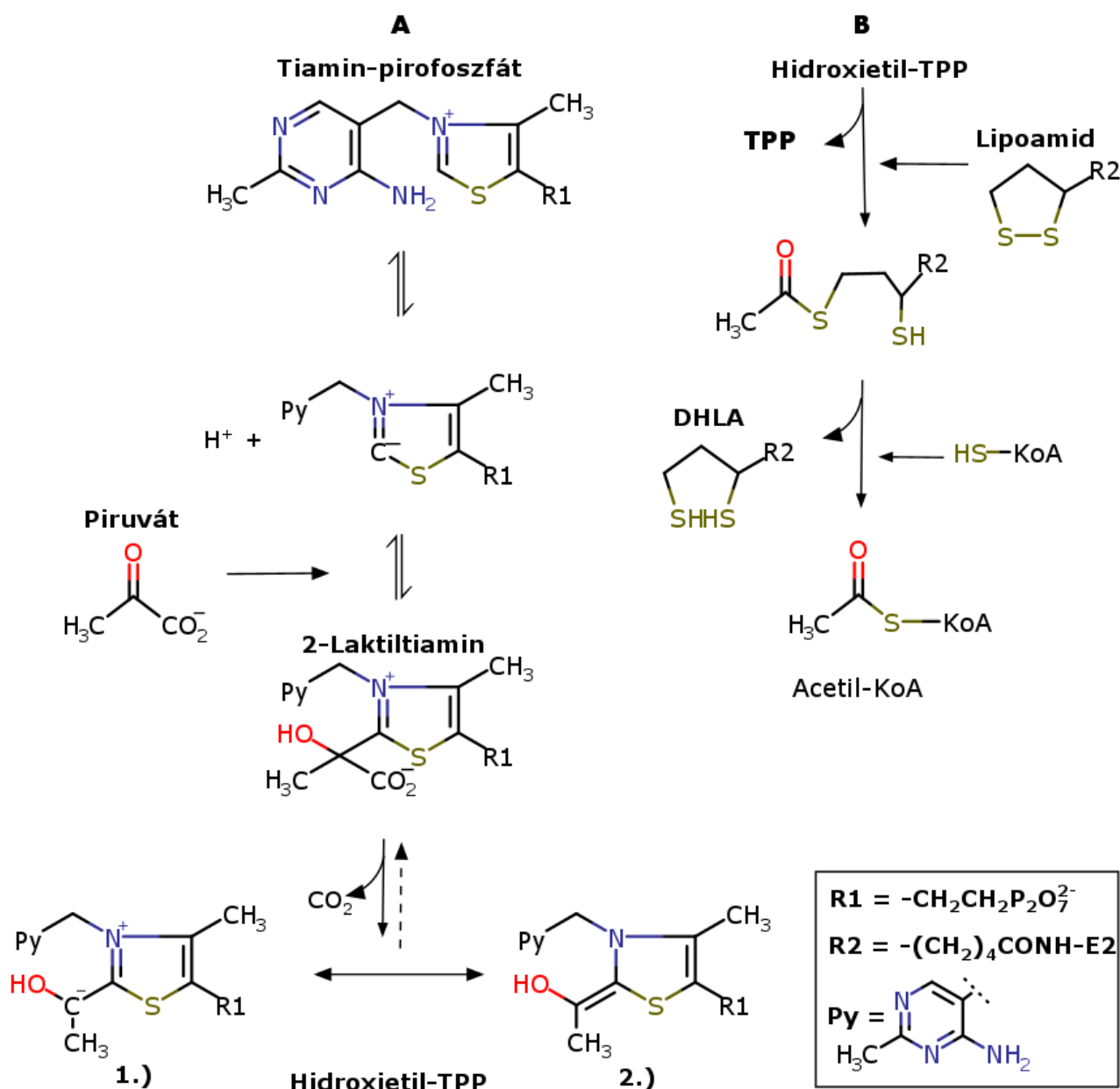
Bevezetés

A mitokondriális enzimkészlet része a kiemelt jelentőségű α -ketosav-dehidrogenáz enzimcsalád, amelynek képviselői enzimkomplexek formájában integrálódtak a különböző metabolikus útvonalakba. Eltérő szubsztrát-specifitásuk szerint négy komplexet különböztethetünk meg. A piruvát-dehidrogenáz komplex (PDHk) az aerob szénhidrát metabolizmusban játszik szerepet, a glikolízisben keletkező piruvátot alakítja acetil-Koenzim-A (acetyl-CoA)-vá [1]. A citrátkörben található az α -ketoglutarát-dehidrogenáz komplex (KGDHk), amelynek működése mind a lebontó, mind pedig a felépítő folyamatok szempontjából nélkülözhetetlen [2]. Az aminosav anyagcserében az elágazó-szénláncú α -ketosav-dehidrogenáz komplex (ELKDHk), valamint az α -ketoadipát-dehidrogenáz komplex (KADHk) játszik közre. Előbbi a valin, izoleucin és leucin aminosavak metabolizmusában vesz részt, utóbbi pedig a lizin, hidroxilizin és triptofán lebontásában jelentős [3, 4]. A komplexek mindegyike három fő alegységből épül fel, eszerint beszélhetünk E1-, E2- és E3-alegységekről. Az anyagcserében betöltött kulcsfontosságú szerepüknél fogva mutációik neurodegeneratív megbetegedéseket és metabolikus zavarokat okoznak, ezzel összefüggésben pedig gyakran kutatott terület a reaktív oxigénszármazék (ROS) termelő képességük is [5, 6]. Jelen publikációnk célja a szakirodalom jelenleg elérhető α -ketosav-dehidrogenáz enzimkomplexekről szóló ismereteinek magyar nyelvű rövid összefoglalása.

Működés

A reakciósorban az első, vagyis E1-alegység az ún. α -ketosav-dehidrogenáz enzim, ami prosztetikus csoportként tiamin-pirofoszfátot (TPP) tartalmaz nem-kovalensen kötve, és két reakciót katalizál [7]. Először a szubsztrát dekarboxilációját hajtja végre, aminek során a TPP koenzim tiazol gyűrűje deprotonálódik, így pedig C2 atomján negatív töltés jelenik meg. Ez a karbanion a továbbiakban nukleofil ágensként képes az oxosav C α atomjának megtámadására. A piruvát-dehidrogenáz példájából kiindulva az így keletkező intermedier a 2-laktiltiamin, ami a kialakulását követően dekarboxilálódik [8].

Ezt követően az eredeti oxosav C_{α} atomja és a tiazol gyűrű C2 atomja közötti kapcsolat két szerkezettel írható le (1A. ábra).



1. ábra. A PDH E1- és E2-alegységei által katalizált reakciók és intermediereik. A) A TPP és a piruvát reakciója. Az 1. és 2. számjelzésű molekulák a hidroxietil-TPP molekula határszerkezeteit jelzik: 1.) karbanion forma, 2.) enamin forma [8]. B) A lipoamid és a dekarboxilálódott ketosav reakciója, illetve a KoA reakcióúthoz történő csatlakozása. Az ábra a MarvinSketch programmal készült.

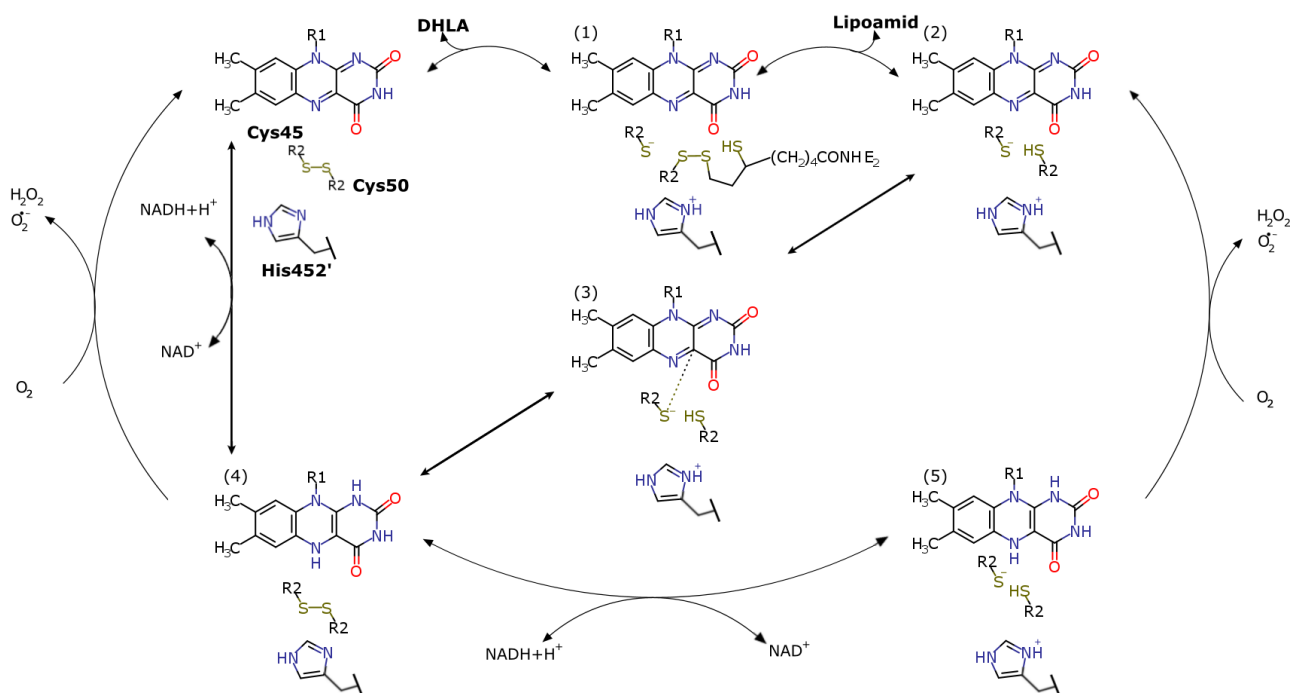
Az E1-alegység által katalizált második reakció során az E2-alegység (dihidrolipoil-transzszaciláz) prosztetikus csoportja, a lipoamid ditiolán gyűrűjének diszulfid-kötése felszakad (kételektronos redukció) és a 8-as helyzetű kénatom a dekarboxilálódott ketosav acilcsoportjával tioészter kötést létesít (ezzel egyidőben a lipoamid 6-os helyzetű kénatomja tiolcsoporttá alakul, míg a TPP

visszatér eredeti állapotába) [8, 9]. A kialakuló tioészter köztitermék - az oxoészterekkel ellentétben - makroerg vegyület [10] (1B. ábra).

Ezt követően az acilált lipoamid karbonil szénatomját a Koenzim-A terminális SH (tiolát)-csoportja nukleofil szubsztitúciós reakció keretei között támadja meg, minek következtében a 8-as helyzetű, acilcsoportot vesztett kénatom szintén tiolcsoporttá alakul [11]. Ezen - E2-alegység által katalizált - reakció során létrejön az acil-KoA vegyület (lásd 1B. ábra), amely magas csoportátviteli potenciáljának köszönhetően képes lesz részt venni további anyagcsere-folyamatokban.

Az acil-KoA vegyület létrejöttével még nem ér véget az első katalitikus ciklus, az E2-alegység prosztetikus csoportja ugyanis a reakció közben teljes mértékben dihidrolipoamiddá (DHLA) redukálódott (lásd fent). Az utolsó katalitikus alegység, a (dihidro)lipoamid-dehidrogenáz enzim (E3, LADH) azonban képes visszaállítani a lipoamid eredeti elektronállapotát, biztosítva ezáltal az új katalitikus ciklus elindíthatóságát [12]. A különböző enzimkomplexekben az E3-alegység nem mutatott eltérést sem működésében, sem pedig szerkezetében, így a négy komplex közös alegységeként tartják számon. A LADH aktív centrumában egy katalitikus His bázis, egy redox-aktív (két Cys által alkotott) diszulfid-kötés és egy prosztetikus csoport, a flavin-adenin-dinukleotid (FAD) található [12]. A dihidrolipoamid az E3-alegység aktív centrumába érve a His katalitikus bázis által deprotonálódik az egyik tiolcsoportján. A kialakult tiolát-csoport erős nukleofil sajátságának köszönhetően így már képes lesz megtámadni az E3 redox-aktív diszulfid-kötését: egy átmeneti, ún. kevert diszulfid-híd alakul ki az enzim FAD-tól távolabbi (disztális) redox-aktív Cys kénatomjával. Ezt követően a kevert diszulfid-híd megszűnik, újból kialakul a ditiolán gyűrű, a redox-aktív Cys-ek pedig redukált állapotba kerülnek (a megfelelő elektron-átmenetek következtében). A mechanizmus későbbi folyamatai arra irányulnak, hogy a LADH által felvett elektronok a végső elektronakceptorra, a nikotinamid-adenin-dinukleotidra (NAD^+) kerüljenek. A lipoamid aktív centrumból való távozását követően az E3 többletelektronjai elsősorban egy ún. töltésátviteli-komplex formájában vannak jelen az aktív centrumban. Ebben a komplexben a többletelektronok a FAD és a proximális Cys tiolát között oszlanak meg. A töltésátviteli-komplex egyensúlyt tart a FADH_2 – Cys-S-S-Cys, illetve FAD – (Cys-SH) $_2$ rendszerekkel, amelyek hozzá képest kisebb populációkkal vannak reprezentálva (NAD^+ jelenlétében a FADH_2 állapot bizonyos fajokban inkább már csak FADH_2 - NAD^+ addukt formájában jelenik meg

számottevő mennyiségben). A FADH_2 - NAD^+ köztitermék megjelenésével egyidőben az aktív centrum diszulfidhídja ismét kialakul (teljes populációval), majd a NAD^+ teljesen redukálódik, a FAD pedig újra oxidált állapotba kerül [13, 14] (2. ábra). Ezzel a katalitikus ciklus befejeződik, az összes alegység a kiindulási állapotba tér vissza, miközben CO_2 , acil-KoA és NADH keletkezik.



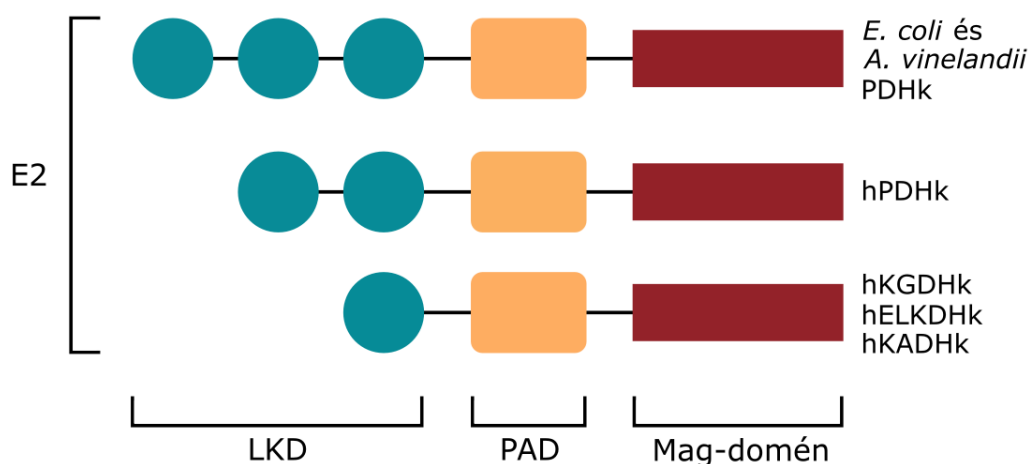
2. ábra. A LADH aktív centrumának reakciói. (1): A DHLA kevert diszulfid kötése a FAD-tól nézve disztális ciszteinnel. **(2)-(4):** Az LA távozását követően a 2-elektron (által) redukált enzimben kialakult (egyensúlyi) specieszek. **(5):** Magas NADH/NAD^+ -arány mellett létrejövő, patológiásan releváns, 4-elektronnal redukált enzim. Alacsony NAD^+ koncentráció mellett az oxigén is szolgálhat elektronakceptorként, így az enzim hidrogén-peroxidot, illetve szuperoxid-aniont lesz képes előállítani (ROS-képzés). A cikk terjedelmi korlátai miatt a ROS-képzés részletes bemutatására az itt hivatkozott akadémiai doktori értekezést ajánljuk az érdeklődők figyelmébe [15]. R1 = ribitil-ADP, R2 = $-\text{CH}_2\text{CHNHCO}$. Az ábra a MarvinSketch programmal készült.

Szerkezet

Az E1-alegység minden érintett komplexben eltér aktív centrumának felépítésében szubsztrát-specifitásától kifolyólag. Ha a szubsztrát ketosavak általános szerkezetét az R-CO-COOH képlettel szeretnénk leírni, akkor az R-csoportok a különböző komplexeknél a következőképpen változnak: CH_3 - (piruvát) a PDHk, $\text{HOOC-(CH}_2)_2$ - (α -ketoglutarát) a KGDHk, $\text{HOOC-(CH}_2)_3$ - (α -ketoadipát) a KADHk, és $(\text{CH}_3)_2\text{-CH-CH}_2$ - (α -ketoizokaproát), $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH(CH}_3)$ - (α -keto- β -metilvalerát), vagy $(\text{CH}_3)_2\text{-CH-}$ (α -ketoizovalerát) az ELKDHk esetében (ez utóbbinál a kiindulási szubsztrátok rendre a leucin, izoleucin és valin aminosavak transzaminációs termékei) [16]. A PDHk és ELKDHk esetén az E1-komponensben α - és β -láncokból felépülő heterotetramerek ($\alpha_2\beta_2$) vannak jelen

[17]. Kivételként jelentkezik a KGDHk, mivel itt az egynemű E1-alegység láncok egy egyszerű homodimert alkotnak [18, 19]. A PDHk és ELKDHk esetén az α -láncok adják az enzim aktív centrumát (láncenként egyet-egyet), míg a β -láncok funkciója valószínűleg az enzimkomplex további alegységeihez való kötődésben merül ki. A TPP pozícionálása érdekében az aktív centrumhoz közeli megfelelő aminosavak oldal-, illetve főláncaik segítségével kapcsolódnak a prosztetikus csoport pirofoszfát részéhez és aminopirimidin gyűrűjéhez [20].

Az E2-komponens kulcsfontosságú strukturális szerepet tölt be a komplex egészének kialakításában. A szakirodalom a monomerek vizsgálata kapcsán három régióról számol be. A C-terminálisnál elhelyezkedő ún. mag-domén adja az enzim aktív centrumát, ettől N-terminális irányban a perifériás alegység-kötő domén (PAD) található, a lánc N-terminális képletét pedig a liponsav-kötő domén(ek) (LKD; lipoil-doménként is említi a szakirodalom) adja/adják. A PAD felelős általában a további alegységek csatlakozásáért a teljes komplex vonatkozásában. Az LKD-k egy láncban belüli száma – ami egy és három között változik – sokszor eltérést mutat a vizsgált fajok tekintetében, illetve a komplexek egyes képviselői között is (3. ábra) [21]. Egy LKD egy liponsav-kofaktor kötésére képes. Két monomer kapcsolódásán keresztül alakul ki az aktív centrum, ennél fogva az oligomerizáció az enzimaktivitás feltétele [22]. A katalitikus centrum közelében található két egymásra nagyjából merőleges oldószer-csatorna, amiken keresztül az acilált lipoamid és a Koenzim-A eléri az enzim aktív helyét. Érdekesség, hogy a KGDHk és KADHk ugyanazt az E2-alegységet használja [23].



3. ábra. Reprezentatív E2-alegységek sematikus domén szerkezetei. A vizsgált fajtól és az enzimkomplex típusától függően eltérő számú (egy, kettő vagy három) liponsav-kötő (ún. lipoil-) domén jelenhet meg az egyes E2-alegységekben. A domének közötti linker régiókat folytonos fekete vonal jelzi. Az ábra jobb oldalán a vizsgált faj és az alegység eredete került feltüntetésre. Rövidítések: liponsav-kötő domén, LKD; perifériás alegység-kötő domén, PAD. A „h” jelzés humán eredetű enzimkomplexre utal [21].

Az E2 fehérjékhez nagy hasonlóságot mutató további lehetséges alegység az ún. E3-kötő fehérje (E3KF), amely monomerenként csupán egyetlen liponsav-kötő régióval rendelkezik, illetve elvesztette katalitikus aktivitását. Ez a lánc kizárólag bizonyos eukarióta (pl. élesztő, emlős) PDHk-k esetében került megfigyelésre, aholis a LADH/E3 kapcsolódását teszi lehetővé [21].

1. táblázat. Lánc-sztöchiometria humán és *E. coli* α -ketosav-dehidrogenáz komplexekben [22. 30, 31].

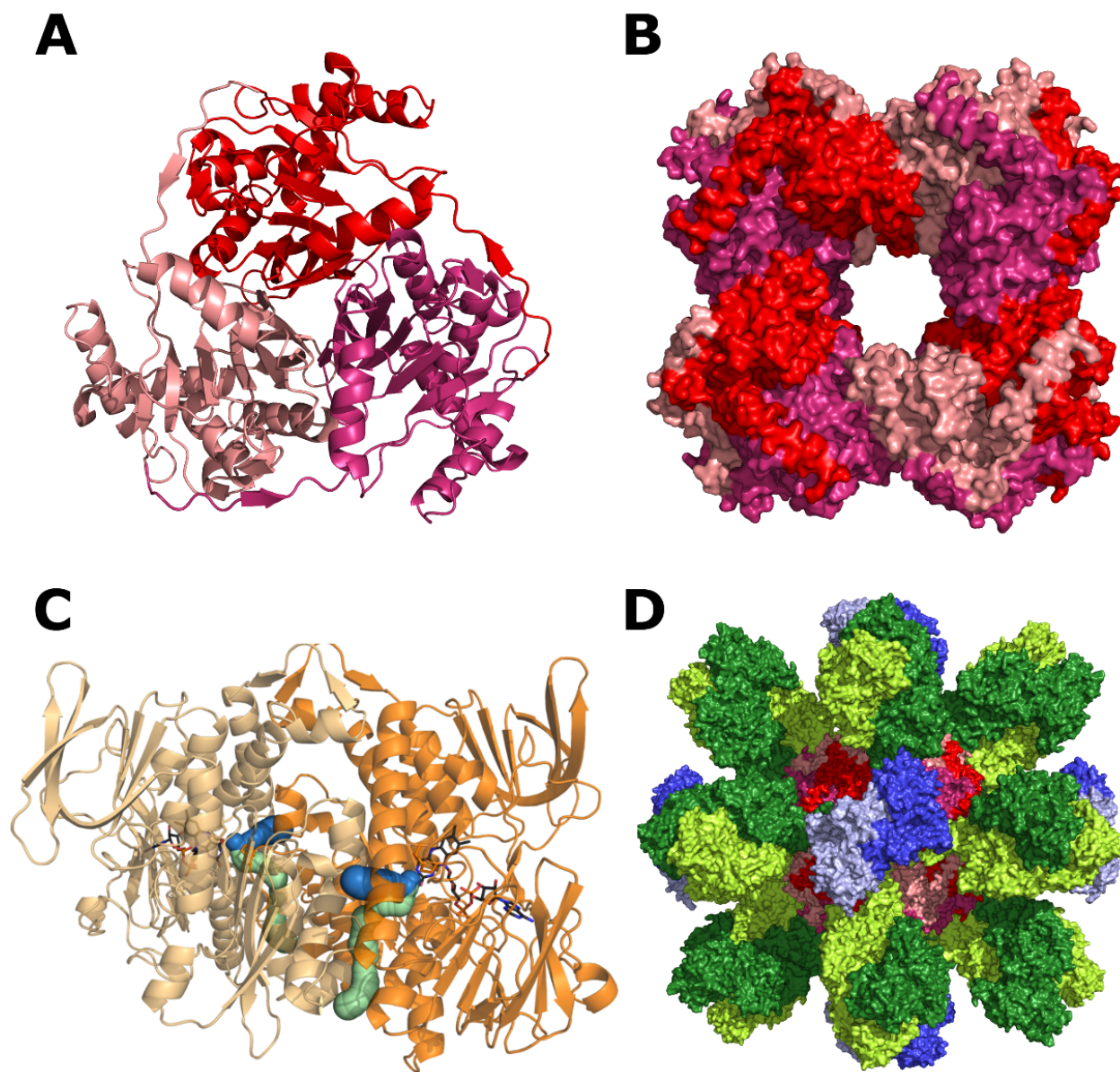
<i>H. sapiens</i>	E1	E2		E3	E3KF
	Láncok száma	Láncok száma	Mag szerkezete	Láncok száma	
PDHk	120*	60*	pentagonális dodekaéder (20x3)	12*	12*
	160**	40**		40**	20**
KGDHk	24	24	kocka (8x3)	12	-
ELKDHk	12	24	kocka (8x3)	nincs adat	-
<i>E. coli</i>	E1	E2		E3	E3KF
	Láncok száma	Láncok száma	Mag szerkezete	Láncok száma	
PDHk	24	24	kocka (8x3)	12	-
KGDHk	12	24	kocka (8x3)	12	-

*: addíciós modell

** : szubsztitúciós modell

A fenti komplexekben közös E3-alegység két lánc funkcionális homodimert alkot. A fehérjeláncon belül négy domén épül fel (FAD-kötő, NAD⁺/NADH-kötő, központi, illetve dimerizációs domének) [24]. A lánconkénti egy aktív centrumban a FAD prosztetikus csoport (az izoalloxazin-gyűrű), a katalitikus bázis (His) és a redox-aktív Cys-pár található meg (lásd fent). A homodimerizációs felszín közelében található két aktív centrumra nyíló oldószercsatorna. Az egyik egy meglehetősen hidrofób, ~10 Å hosszúságú csatorna, amin keresztül a DHLA kötődése valósulhat meg [24]. A másik egy ~20 Å hosszúságú, hidrofilebb karakterű csatorna, melynek pontos funkciója jelenleg még nem bizonyított, de feltehetően a katalitikus ciklusban felszabaduló H⁺/H₃O⁺, illetve a „fizikailag” – a DHLA kötődésének hatására – a csatornában megjelenő extra H₂O elvezetésére szolgálhat (4C. ábra) [24]. Jelen ismereteink szerint az E3 háromféle módon képes kötődni a komplexekhez. Az eukarióta PDHk-kban az E3KF, a hKGDHk-ban elsősorban az E1, míg a többi ismert esetben az E2-PAD valósítja meg a kötődést (utóbbi esetben az E1 és az E3 verseng ugyanazért a kötőhelyért) [25-27].

A komplexek működésének feltétele az egyes alegységek egymással létrehozott szerkezeti struktúrájának kialakítása. Az intakt komplex alapszerkezete minden esetben az E2-komponensből épül fel, amely egy homotrimer (4A. ábra) és ami fajtól és komplextől függően esetenként eltérő számban van jelen (lásd 1. táblázat).



4. ábra. A munkacsoport által meghatározott hE3 és hE2k szerkezetek, illetve a hKGDHk szerkezeti topológia. A) A hKGDHk E2-alegységének homotrimer szerkezete (krio-EM). Az egyes láncok rózsaszín, lila és piros színnel kerültek feltüntetésre [22]. **B)** A hKGDHk E2-alegységeinek homotrimer struktúráiból felépülő belső (mag)szerkezet. Az egyes homotrimerek egy kocka alakú szerkezet nyolc csúcsában foglalnak helyet [22]. **C)** A hE3 röntgenszerkezete. A két monomer narancssárga, illetve szalmasárga színű, a FAD pálcika-modelljében a C-, O-, N- és P- atomok rendre fekete, piros, kék, narancs színűek. Az aktív centrumba vezető, egymásra merőleges lefutású LA-, illetve víz-csatorna rendre kék és halványzöld színű gömbökkal van modellezve a Caver program felhasználásával [24]. **D)** A hKGDHk javasolt teljes szerkezeti topológiája. Az E1-alegységek világos- és sötétzöld, míg az E3-alegységek világos- és sötétkék színekkel kerültek feltüntetésre. Az E2-mag a B) panelben bemutatottal azonos [22].

Az E2-alegységhez hasonlóan az E1- és E3-alegységekből is több vesz részt a komplett szerkezet kialakításában. A lánc-sztöchiometriában komplextől és fajtól függően eltérések fedezhetők fel, illetve az egyes komplexek összetételét illetően sincs mindig konszenzus az irodalomban. Egy kiemelendő példa a hPDHk, aminek összetételére a mai napig két főbb elmélet nyújt magyarázatot. Az ún. szubsztitúciós modell szerint a hPDHk-E2-ből felépülő magszerkezetben ($20 \times 3 = 60$ fehérjelánc) minden harmadik láncot egy E3KF helyettesít [28]. Az ún. addíciós modellben a 60 E2-láncot kiegészíti további 12 E3KF, így összesen 72 lánc járul hozzá a magszerkezet felépítéséhez [29]. Fontos megjegyezni, hogy az egyes fajokban és komplexekben található eltérések tekintetében a szerkezet-meghatározásra irányuló kísérletek a mai napig zajlanak, és bár még számos esetben nem rendelkezik adatokkal a szakirodalom, ezen publikációban a jelenleg elérhető információnak is csak egy részlete kerül bemutatásra.

Az E2-alegység központi elhelyezkedése a szubsztrát-transzferben kulcsfontosságú prosztetikus csoportjának (illetve az azt hordozó doménnek [lipoil-domén]) ingaszerű mozgási tulajdonságával magyarázható. Az LKD és PAD közötti kb. 20-30 aminosav hosszúságú, alaninban és prolinban gazdag linker régió flexibilitásánál fogva helyváltoztatásra alkalmassá teszi az LKD-t, minek következtében az - az aktuális aciláltsági és oxidációs állapotától függően - képes a komplex további alegységeinek aktív centrumaival átmeneti kapcsolatot kialakítani [31].

Szabályozás

A komplexek szabályozása számos mechanizmuson keresztül valósulhat meg, aminek eredményeként az egyes multienzim-komplex aktivitások mindig a sejt aktuális igényeihez igazodnak. Az allosztérikus moduláció a legszignifikánsabb szabályozási forma. Ezenkívül az enzimreakciókban képződő ágensek (NADH és az enzimkomplexek Koenzim-A-val kapcsolt végtermékei) a keletkezésük helyén visszahatnak az alegységspecifikus reakciókra, és gátolják újabb termékek keletkezését [32]. A NADH további hatása, hogy nagy koncentrációban - fiziológiás körülmények között kielégítő energiaraktárakkal rendelkező sejtekben - az E3-alegységet 4 elektronnal redukálja, és ezáltal inaktiválja (lásd 2. ábra) [15]. A NAD^+ jelenléte azonban képes ellensúlyozni ezt a gátlási mechanizmust (a 4-elektronos redukált állapot ilyenkor destabilizálódik), amely rámutat a NAD^+/NADH -arány fiziológiás jelentőségére. Allosztérikusan az alábbi molekulák és ionok képesek közvetlenül modulálni a fenti enzimkomplexek működését: AMP/ADP/ATP/GTP, zsírsavak, PO_4^{3-} , Ca^{2+} és Mg^{2+} (utóbbi a TPP-vel

van koordinációban) [33]. Az ADP és anorganikus ortofoszfát esetében például a KGDHk α -ketoglutarát felé mutatott affinitásának növekedéséről számoltak be megtartott maximális (kezdeti) reakciósebesség ($v_{\max}$) mellett. A magas ADP- P_i szint a sejten belüli alacsony energiaállapot jelzője, így a citrátköri enzim működésének allosztérikus fokozása segíti az energiaraktárak feltöltését. Az emelkedett ATP szint ellentétes hatást fejt ki [33].

Két emlős enzimkomplex esetében foszforilációs és defoszforilációs poszttranszlációs módosításokkal történő regulációt is leírtak. A PDH- és az ELKDH-komplexekhez további kináz és foszfatáz aktivitású enzimek csatlakoznak, melyek ugyancsak allosztérikus szabályozás alatt állhatnak (pl. piruvát, Ca^{2+} , ADP/ATP, acetyl-KoA, NADH, inzulin által, a megfelelő enzimkomplexek esetében). A foszforiláció az E1-alegységek aktív centrumaihoz közel - ún. foszforilációs hurkokon - található Ser aminosavakon valósul meg, az aktív centrumokban sztérikus gátlást eredményezve [34]. A foszforiláció tehát minden esetben inaktiválódást, a defoszforiláció pedig reaktivációt idéz elő. A PDHk kinázok több izoformáját is leírták, amelyek egymással oligomerizálódva igen változatos enzimkinetikai paraméterekkel rendelkezhetnek. Tovább komplikálja a szabályozási mechanizmust a foszfatázokra irányuló Ca^{2+} ionok általi moduláció: jelenlétükben megfigyelték a foszfatázok E1-alegységek irányába történő affinitás-növekedését is (ez E2-alegység-függő módon valósul meg). Azokban a szövetekben, ahol a Ca^{2+} aktiváló hatással rendelkezik (pl. izom, agy), az itt bemutatott pozitív allosztérikus moduláció következtében emelkedett intenzitású metabolizmust tapasztalunk. Így kerülhet összehangolásra a megfelelő szövetek megnövekedett energiaigénye az anyagcserével [32].

Összefoglalás

A számos anyagcsere-útvonalban szerepet játszó α -ketosav-dehidrogenáz enzimcsalád működésének köszönhetően a mitokondriális energiatermeléshez elengedhetetlen molekulák, illetve az aminosav és szénhidrát-metabolizmus során szükséges intermedierek előállítása és átalakítása megy végbe. Az egyes alegységek által katalizált konszekutív enzimreakciók közti szubsztrát-transzferek megvalósítására ezek az enzimkomplexek egyedülálló mechanizmussal rendelkeznek. A sejtekben folyamatosan változó metabolikus igények kielégítése megköveteli az enzimkomplexek pontos és gyors regulációját, ennek érdekében pedig allosztérikus modulátorok és bizonyos esetekben foszforilációs/defoszforilációs módosítások is szabályozzák a

komplexek aktivitását. Bár a mai napig felderítésre várnak egyes fajok és komplexek közötti pontos különbségek, a méltán kutatott enzimcsalád képviselői szerkezeti sajátosságainak leírására irányuló erőfeszítések a modern szerkezetmeghatározási technikák implementációjának köszönhetően egyre eredményesebbnek bizonyulnak.

Irodalomjegyzék

- [1] Yeaman, S.J. (1989) The 2-oxo acid dehydrogenase complexes: recent advances. *The Biochemical Journal*, **257(3)**: 625–632.
- [2] József, M. (2016) Bioenergetika. In: Orvosi Biokémia (Á. Veronika, Ed.), (Semmelweis Kiadó, Budapest) pp. 130.
- [3] Wynn, R.M., Davie, J.R., Meng, M., Chuang, D.T., (1996) Structure, function and assembly of mammalian branched-chain α -ketoacid dehydrogenase complex. In: Alpha-Keto Acid Dehydrogenase Complexes (M.S. Patel, T.E. Roche, and R.A. Harris, Ed.), (Birkhäuser Verlag, Basel) pp. 101-117.
- [4] Jordan, F., Nemeria, N., Gerfen, G. (2019) Human 2-Oxoglutarate Dehydrogenase and 2-Oxoadipate Dehydrogenase Both Generate Superoxide/H₂O₂ in a Side Reaction and Each Could Contribute to Oxidative Stress in Mitochondria. *Neurochemical Research*, **44(10)**: 2325–2335.
- [5] Gibson, G.E., Park, L.C., Sheu, K.F., Blass, J.P., Calingasan, N. Y. (2000) The alpha-ketoglutarate dehydrogenase complex in neurodegeneration. *Neurochemistry International*, **36(2)**: 97–112.
- [6] Ambrus, A., Nemeria, N.S., Torocsik, B., Tretter, L., Nilsson, M., Jordan, F., Adam-Vizi, V. (2015) Formation of reactive oxygen species by human and bacterial pyruvate and 2-oxoglutarate dehydrogenase multienzyme complexes reconstituted from recombinant components. *Free Radical Biology & Medicine*, **89**: 642–650.
- [7] Korotchkina, L.G., Ali, M.S., Patel, M.S. (1996) Probing the active site of mammalian pyruvate dehydrogenase. In: Alpha-Keto Acid Dehydrogenase Complexes (M.S. Patel, T.E. Roche, and R.A. Harris, Ed.), (Birkhäuser Verlag, Basel) pp. 17-32.
- [8] Tittmann, K. (2009) Reaction mechanisms of thiamin diphosphate enzymes: redox reactions. *The FEBS Journal*, **276**: 2454-2468.
- [9] Reed, L.J., Hackert, M. L. (1990) Structure-function relationships in dihydrolipoamide acyltransferases. *The Journal of Biological Chemistry*, **265(16)**: 8971–8974.
- [10] József, M. (2016) Bioenergetika, In: Orvosi Biokémia (Á. Veronika, Ed.), (Semmelweis Kiadó, Budapest) pp. 106.

- [11] József, M. (2016) Bioenergetika, In: Orvosi Biokémia (Á. Veronika, Ed.) (Semmelweis Kiadó, Budapest). pp. 128.
- [12] Szabo, E., Wilk, P., Nagy, B., Zambo, Z., Bui, D., Weichsel, A., Arjunan, P., Torocsik, B., Hubert, A., Furey, W., Montfort, W.R., Jordan, F., Weiss, M.S., Adam-Vizi, V., Ambrus, A. (2019) Underlying molecular alterations in human dihydrolipoamide dehydrogenase deficiency revealed by structural analyses of disease-causing enzyme variants. *Human Molecular Genetics*, **28(20)**: 3339-3354.
- [13] Searls, R.L., Peters, J.M., Sanadi, D.R. (1961) Alpha-Ketoglutaric dehydrogenase. X. On the mechanism of dihydrolipoyl dehydrogenase reaction. *The Journal of Biological Chemistry*, **236**: 2317-2322.
- [14] Massey, V., Palmer, G. (1962) Charge transfer complexes of lipoyl dehydrogenase and free flavins. *The Journal of Biological Chemistry*, **237**: 2347-2358.
- [15] Ambrus, A. (2022) A lipoamid-dehidrogenáz és az alfa-ketoglutarát-dehidrogenáz komplex molekuláris patológiája, MTA doktori értekezés, <http://real-d.mtak.hu/id/eprint/1377>
- [16] Bunik, V.I., Sievers, C. (2002) Inactivation of the 2-oxo acid dehydrogenase complexes upon generation of intrinsic radical species. *European Journal of Biochemistry*, **269**: 5004-5015.
- [17] Li, J., Machius, M., Chuang, J.L., Wynn, R.M., Chuang, D.T. (2007) The two active sites in human branched-chain alpha-keto acid dehydrogenase operate independently without an obligatory alternating-site mechanism. *The Journal of Biological Chemistry*, **282(16)**: 11904-11913.
- [18] Frank, R.A., Price, A.J., Northrop, F.D., Perham, R.N., Luisi, B.F. (2007) Crystal structure of the E1 component of the Escherichia coli 2-oxoglutarate dehydrogenase multienzyme complex. *Journal of Molecular Biology*, **368(3)**: 639-651.
- [19] Zhong, Y., Gao, Y., Zhou, D., Ma, X., Chen, H., Xu, Y., Yang, W., Yu, X. (2022) Structural basis for the activity and regulation of human α -ketoglutarate dehydrogenase revealed by Cryo-EM. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **602**: 120-126.
- [20] Evarsson, A., Chuang, J. L., Wynn, R. M., Turley, S., Chuang, D.T., Hol, W.G. (2000) Crystal structure of human branched-chain alpha-ketoacid dehydrogenase and the molecular basis of multienzyme complex deficiency in maple syrup urine disease. *Structure*, **8(3)**: 277-291.
- [21] Perham, R.N. (1996) Interaction of protein domains in the assembly and mechanism of 2-oxo acid dehydrogenase multienzyme complexes. In:

- Alpha-Keto Acid Dehydrogenase Complexes (M.S. Patel, T.E. Roche, and R.A. Harris, Ed.), (Birkhäuser Verlag, Basel) pp. 1-15.
- [22] Nagy, B., Polak, M., Ozohanics, O., Zambo, Z., Szabo, E., Hubert, A., Jordan, F., Novaček, J., Adam-Vizi, V., Ambrus, A. (2021) Structure of the dihydrolipoamide succinyltransferase (E2) component of the human alpha-ketoglutarate dehydrogenase complex (hKGDHc) revealed by cryo-EM and cross-linking mass spectrometry: Implications for the overall hKGDHc structure. *Biochimica et Biophysica Acta. General subjects*, **1865(6)**: 129889.
- [23] Nemeria, N.S., Gerfen, G., Nareddy, P.R., Yang, L., Zhang, X., Szostak, M., Jordan, F. (2018) The mitochondrial 2-oxoadipate and 2-oxoglutarate dehydrogenase complexes share their E2 and E3 components for their function and both generate reactive oxygen species. *Free Radical Biology & Medicine*, **115**: 136–145.
- [24] Szabo, E., (2020) A humán dihidrolipoamid-dehidrogenáz patogén mutánsainak szerkezetanalízise, PhD értekezés, Semmelweis Egyetem, Budapest, <http://dx.doi.org/10.14753/SE.2020.2387>
- [25] Brautigam, C.A., Wynn, R.M., Chuang, J.L., Machius, M., Tomchick, D.R., Chuang, D.T. (2006) Structural insight into interactions between dihydrolipoamide dehydrogenase (E3) and E3 binding protein of human pyruvate dehydrogenase complex. *Structure*, **14(3)**: 611–621.
- [26] Ling, M., McEachern, G., Seyda, A., MacKay, N., Scherer, S.W., Bratinova, S., Beatty, B., Giovannucci-Uzielli, M.L., Robinson, B.L. (1998) Detection of a Homozygous Four Base Pair Deletion in the Protein X Gene in a Case of Pyruvate Dehydrogenase Complex Deficiency. *Human Molecular Genetics*, **7(3)**: 501-505.
- [27] McCartney, R.G., Rice, J.E., Sanderson, S.J., Bunik, V., Lindsay, H., Lindsay, J.G. (1998) Subunit interactions in the mammalian alpha-ketoglutarate dehydrogenase complex. Evidence for direct association of the alpha-ketoglutarate dehydrogenase and dihydrolipoamide dehydrogenase components. *The Journal of Biological Chemistry*, **273(37)**: 24158–24164.
- [28] Brautigam, C.A., Wynn, R.M., Chuang, J.L., Chuang, D.T. (2009) Subunit and catalytic component stoichiometries of an in vitro reconstituted human pyruvate dehydrogenase complex. *The Journal of Biological Chemistry*, **284(19)**: 13086–13098.
- [29] Sanderson, S.J., Miller, C., Lindsay, J.G. (1996) Stoichiometry, organisation and catalytic function of protein X of the pyruvate dehydrogenase complex from bovine heart. *European Journal of Biochemistry*, **236(1)**: 68–77.

- [30] Chang, C.F., Chou, H.T., Lin, Y.J., Lee, S.J., Chuang, J.L., Chuang, D.T., Huang, T.H. (2006) Structure of the subunit binding domain and dynamics of the di-domain region from the core of human branched chain alpha-ketoacid dehydrogenase complex. *The Journal of Biological Chemistry*, **281(38)**: 28345–28353.
- [31] Perham, R.N., Jones, D.D., Chauhan, H.J., Howard, M.J. (2002) Substrate channelling in 2-oxo acid dehydrogenase multienzyme complexes. *Biochemical Society Transactions*, **30(2)**: 47–51.
- [32] József, M. (2016) Bioenergetika, In: Orvosi Biokémia (Á. Veronika, Ed.), (Semmelweis Kiadó, Budapest) pp. 132–133.
- [33] Strumilo, S. (2005) Short-term regulation of the alpha-ketoglutarate dehydrogenase complex by energy-linked and some other effectors. *Biochemistry. Biokhimiia*, **70(7)**: 726–729.
- [34] Kato, M., Chuang, J.L., Tso, S.C., Wynn, R.M., Chuang, D.T. (2005) Crystal structure of pyruvate dehydrogenase kinase 3 bound to lipoyl domain 2 of human pyruvate dehydrogenase complex. *The EMBO Journal*, **24(10)**: 1763–1774.



Wittinger Soma gyógyszerészi diplomáját 2022-ben szerezte a Semmelweis Egyetemen. Tudományos Diákköri munkáját egyetemi tanulmányainak 4. féléve után kezdte meg a Biokémiai Tanszéken, ahol az Ambrus Attila által vezetett Molekuláris Enzimológiai Munkacsoporthoz csatlakozott. Itt mélyült el a csoport kutatási tevékenységének középpontjában álló mitokondriális enzimdefektusokban. Tanulmányai alatt tagja volt a Semmelweis Egyetem Korányi Frigyes Szakkollégiumának. Diplomamunkája a mitokondriális α -ketosav-dehidrogenáz enzimkomplexek téma-körében íródott.



Szabó Eszter a Semmelweis Egyetem Biokémiai Tanszékének adjunktusa, a Molekuláris Enzimológiai Munkacsoport munkatársa. Okleveles gyógyszerész, diplomáját 2014-ben a Semmelweis Egyetemen szerezte. Doktori munkáját Ambrus Attila témavezetésével végezte, A humán dihidrolipoamid-dehidrogenáz patogén mutánsainak szerkezetanalízise c. értekezését 2020-ban védte meg. Egyetemi tanulmányai alatt három évben Köztársasági Ösztöndíjban, doktori képzése alatt egy évben Új Nemzeti Kiválósági Ösztöndíjban, majd Predoktori Ösztöndíjban részesült. 2022-ben a hallgatói visszajelzések alapján Oktatói Merit-díjat nyert el.



Ambrus Attila a Semmelweis Egyetem Biokémiai Tanszékének habilitált docense, az MTA doktora, végzettségét tekintve okleveles vegyész. A Debreceni Egyetemen a Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézetben végezte doktori munkáját, doktori értekezését 2001-ben védte meg. Az Arizonai Egyetemen volt posztdoktori ösztöndíjas 2000 és 2006 között, ahol fehérje- és nukleinsav-szerkezetkutatással foglalkozott. A Semmelweis Egyetemen érdeklődésének középpontjában a humán α -ketoglutarát-dehidrogenáz enzimkomplex által katalizált ROS-képzésnek, illetve a humán E3-deficiencia betegség molekuláris patomechanizmusának a vizsgálata áll. Fontosabb szakmai elismerései: kétszeri Bolyai Ösztöndíj, Bolyai Plakett, Fulbright Ösztöndíj, EMBO Ösztöndíj („short-term”), kétszeri Merit Díj (Semmelweis Egyetem).

PALACKOZOTT BOROK ELTARTHATÓSÁGA A MEGVILÁGÍTÓ FÉNY ÉS A PALACK ANYAGÁNAK FÜGGVÉNYEBEN

Laposa Zsófia¹, Keszei Ernő²

¹ Pécsi Tudományegyetem, Természettudományi Kar,
Biológiai Intézet és Szőlészeti és Borászati Kutatóintézet,

² Eötvös Loránd Tudományegyetem, Kémiai Intézet,
Fizikai Kémiai Tanszék

Összefoglalás

A borokat készítésük és érlelésük során legtöbbször fénytől elzárva, sötétben tárolják. A palackok nagy része azonban kereskedelmi forgalomba kerül, szaküzletek vagy szupermarketek polcaira, mielőtt a fogyasztók megvásárolnák. Ezek jelentős besugárzása az UV-A és az ibolya színű tartományban (320–440 nm) rontja a borok érzékszervi minőségét, amint ezt már 1978-ban leírták [1]. Az ún. „fényíz” (goût de lumière) kialakulásáért a fototermékek, főként a szerves kénvegyületek felelősek. A károsodás természete és mértéke jelentősen függ magától a bortól (fajta, készítési mód, életkor stb.), valamint a palack anyagától (színétől) és formájától. Ebben a cikkben először röviden áttekintjük a legfontosabb káros fotokémiai folyamatokat irodalmi források alapján. Ezt követően ismertetjük saját kutatásainkat, amelyek során elsőként vizsgáltuk borospalackok *in situ* fényáteresztési spektrumát különböző fényforrások (napfény, fénycsövek és LED lámpák) alkalmazásával. A mérések eredményeit és irodalmi fotokémiai adatokat felhasználva modellszámításokkal megbecsültük az általunk vizsgált palackokban tárolt borok várható polci élettartamát. Érzékszervi vizsgálataink – amelyek során azonosítottuk a kellemetlen mellékízvegyületek megjelenését a megvilágítási idő függvényében – alátámasztották ezen számításaink megbízhatóságát. Eredményeink alapján javaslatot teszünk palackos borok polci eltarthatóságának növelésére.

Bevezetés

A borok összetételéről részletesen olvashatunk Kállay Miklós tankönyvében [2]; itt csak röviden megemlíjtük a későbbiek szempontjából fontos komponenseket. A bor különböző szervetlen és szerves anyagoknak valódi és kolloid alkoholos-vizes oldata. Legnagyobb mennyiségben víz alkotja, további jelentős összetevői az etilalkohol (általában 10-15 v/v%) és két monoszacharid, a szőlőcukor és a gyümölcscukor.

¹ A szerzők Gráf László professzor (ELTE, Biokémiai Tanszék) emléke előtt tisztelegnek jelen cikkükkel.

A többi komponens együttvéve legfeljebb néhány százaléknyi, mégis ez a több száz féle összetevő adja az egyes borok jellegzetességét. Mennyiségük, illetve egyáltalán jelenlétük nagymértékben függ a szőlő fajtájától, termőhelyétől, a talaj összetételétől, a borkészítés módjától, valamint egyéb tényezőktől. Kis mennyiségben glicerín, tanninok (polifenolok), terpének, cukormentes extrakt (fémek, ásványi anyagok), aminosavak, fehérjék, vitaminok és több száz egyéb, kis koncentrációjú anyag található a borban.

A borok többsége legfeljebb néhány g/l cukrot tartalmaz. A cukortartalom alapján megkülönböztetünk száraz (4 g/l-nél kevesebb), félszáraz (4-12 g/l), félédes (12-45 g/l) és édes (45 g/l felett) borokat. A cukrot tartalmazó borok tárolása, kezelése mindig több odafigyelést igényel, mint a száraz boroké, mivel nehezebb a stabilitás elérése. Fotokémiai szempontból vizsgálva a magasabb cukortartalmú borok viszont kevésbé fényérzékenyek.

A borban előforduló savak mennyisége függ a bor fajtájától és az évjárártól. A borkősav (1–5 g/l) mellett a bor egyik legfontosabb sava az almasav; mennyisége a borban 0–8 g/l körüli. A bor egyik természetes szerves alkotóeleme a citromsav, alkoholos erjedéskor pedig borostyánkősav is képződik. A borok fontos alkotóelemei a tanninok, a fanyarság egyik legfontosabb meghatározói.

A bor nitrogénvegyületeit a következő csoportokba oszthatjuk: ammóniumkation (NH_4^+), amidok, aminosavak, biogén aminok, polipeptidek, peptonok, proteinek és aminosavak. A bor nitrogéntartalmú anyagainak koncentrációja függ a fajtától, a művelési módtól és az évjárat időjárási tényezőitől. Az összes nitrogéntartalom 50–1800 mg/l között változik, így a bor extrakttartalmának 20–30%-át is kiteheti. A szőlő feldolgozási módja is befolyásolja a nitrogéntartalom alakulását: törkölyös erjesztés például növeli a nitrogéntartalmat, a derítésnek pedig nitrogéncsökkentő hatása van. Az aminosavakban levő nitrogén a borok összes nitrogéntartalmának 10–40%-át teszi ki.

A kénhidrogén és a kéntartalmú szerves vegyületek csak kis mennyiségben fordulnak elő a kész borokban, érzékszervi küszöbértékük azonban nagyon alacsony, gyakran mindössze néhány $\mu\text{g/l}$. Küszöbérték felett kellemetlen szaguk van, ezért fotokémiai és borászati szempontból is nagy jelentőséggel bírnak. A kénhidrogén a borban található legegyszerűbb illó kéntartalmú metabolit, amely záptojásszagáról ismerhető fel. Ezt a vegyületet általában

élesztők termelik az elemi kén redukciójával, amely a szüreti időszakban is megtalálható a szőlőn vegyszermaradványok formájában, de kisebb mennyiségben képződhet a kéntartalmú aminosavakból is. Az elpusztult élesztősejtek is részt vesznek autolízisükkel a szerves kénvegyületek kellemetlen szagának kialakításában. Amint erről a későbbiekben részletesen is szó lesz, fény is előidézhetheti a kellemetlen ízű és szagú szerves kénvegyületek képződését. A merkaptánok szénhidrogénláncokhoz kapcsolódó szulfhidril- (SH-) csoportot tartalmaznak. A dimetil-szulfidnak ((CH₃)₂S) a küszöbérték felett rákra emlékeztető szaga van, kisebb mennyiségben pedig spárgára, gabonára és melaszra emlékeztet. A borban néha előfordulnak diszulfid vegyületek is, mint pl. a dimetil- és a dietil-diszulfid.

A borban található különböző vitaminok is, például B2-vitamin (riboflavin), amit az élesztő is szintetizál. Ez fény hatására bomlik, a vörösborokban azonban a színezékek többnyire megvédik ettől. Derítésekkel és adszorbens-kezelésekkel (szén, bentonit) mennyisége csökkenthető. A B5-vitamint (pantoténsav) szintén fontos megemlíteni fotokémiai szerepe miatt. Ennek mennyisége az ászkolás folyamán csökken.

Irodalmi áttekintés

Ha a palackozott fehérborokat az üzletek polcain viszonylag hosszú ideig éri fény, annak hatására mellékaromák képződhetnek [3], színváltozás következhet be [4, 5], valamint csökkenhet a kén-dioxid tartalom [6]. Ezen változások rontják a borok minőségét és lerövidítik eltarthatóságukat. A változás mértéke függ a fényforrás spektrumától, a fény intenzitásától, a palack optikai tulajdonságaitól és az eltelt időtől egyaránt. A továbbiakban részletesen áttekintünk néhány fontos fotokémiai folyamatot, amelyek hozzájárulnak a borok ún. fényízének kialakulásához.

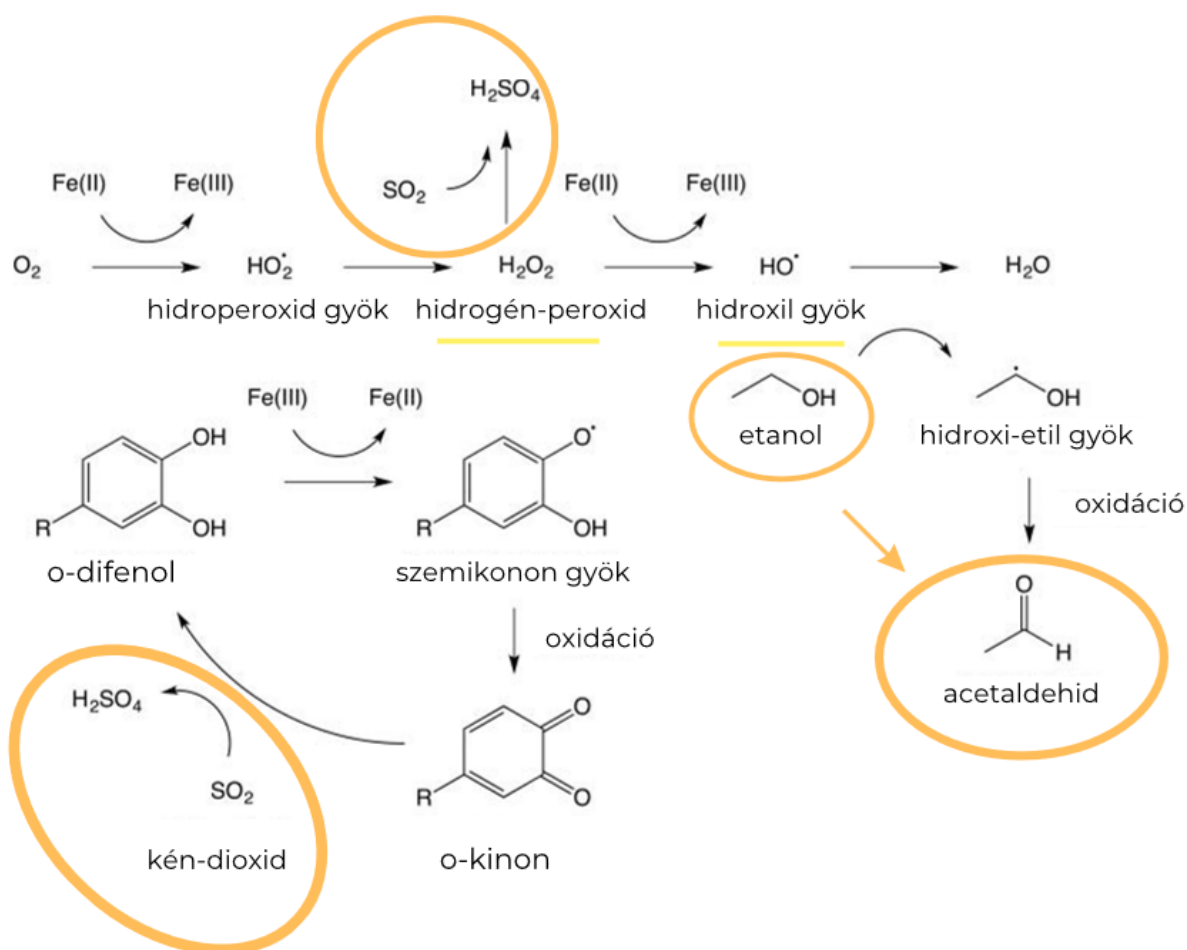
A bor oxidációja

A fehérborok oxidációja legtöbb esetben kedvezőtlen érzékszervi változást okoz [7]. A bor érlelése során oxigént fogyaszt és a záróelemen (dugó, csavarzár) keresztül idővel még több oxigén jut a palackba [8]. A fénynek kitett borban az alapállapotú triplett oxigén (³O₂) szingulett állapotba (¹O₂*) gerjeszthető, ami könnyen reakcióba lép a borban található egyéb molekulákkal. Sötétben tárolt borban nem keletkezik szingulett oxigén [7, 9]. A szingulett oxigén pl. reagál terpénekkel, hidroperoxidokat képezve [10], valamint metioninnal is [11, 12]. A rezveratrol egészségügyi előnyei összefüggenek a szingulett oxigén kioltó

képességével [13]; ezért a fénynek való kitettség csökkentheti ennek a vegyületnek a mennyiségét a borban.

A borban lévő átmeneti fémek, például a vas és a réz, amelyek jellemzően 5,5 és 0,2 mg/l körül vannak jelen [14], katalizálják az oxidációt. A vas(II) az oxigént gyökökké redukálhatja, majd a keletkező vas(III) oxidálhatja bizonyos borkomponenseket, így regenerálhatja a vas(II)-t, befejezve a katalitikus ciklust. A tartarát anion fény hatására lebomlik, ami jelentős hatással lehet a vas(III)/vas(II)-ciklusra is [15-17].

A vaskatalizált folyamatban keletkező hidroxilgyök nagyon erős oxidálószer és gyorsan reagál a borban lévő szerves vegyületekkel [9]. Az etanolt 1-hidroxi-etil-gyökké oxidálja, amely azután acetaldehiddé oxidálódik [18]. A hidroxilgyök kezdetben dihidroxifumársav képződését eredményezi, amely dekarboxilezési és oxidációs reakciók során lebomlik, glioxilsavat és más vegyületeket képezve [9, 16].



1. ábra. A bor fotodegradációjáért felelős egyik folyamat, az oxigén redukciója vas(III)-komplexek segítségével. Grant-Preece és munkatársai közleménye alapján [22].

A fenolvázás vegyületek a bor fő oxidációs szubsztrátjai, és az o-difenol szerkezetűek könnyen szemikinin gyökké oxidálódnak, amelyek tovább oxidálódnak o-kinon-vegyületekké [7, 19]. A fenolvázás vegyületek és oxidációs termékeik reakcióik során nagyobb molekulatömegű vegyületeket képeznek, amely reakciók a bor barnulásáért felelősek [20, 21].

Aromaváltozások

Dozon és Noble 1989-ben leírta, hogy milyen érzékszervi változáson ment át egy fehér csendes- és habzóbor 40 W-os fénycső által 72 órán keresztül történő megvilágítás hatására [3]. Tanulmányuk szerint csökkent a „citrusos” aroma és megjelent a „főtt káposzta”, „kukorica”, „dió”, „nedves gypjű” illat. A fehér üvegben tartott csendes- és habzóborok aromájában már 3,3–3,4 óra elteltével, a zöld palackokban pedig 18, illetve 31 óra elteltével figyeltek meg változást. Mattivi és munkatársai [23] 85 fehérbort 48 órán át wolframszálas izzólámpa fényének tettek ki. Ennek hatására a borok 31%-a intenzív mellékaromát, 40%-a pedig érezhető mellékaromát mutatott, a fennmaradó 29%-ban nem volt tapasztalható változás a vizsgálat során. A fehérborok fényérzékenységét a riboflavin hatásával társították; feltételezhető azonban, hogy más borkomponensek is hozzájárulnak a folyamathoz [23].

Haye és munkatársai a fehérborokban fény által kiváltott mellékaromákat az illékony kénvegyületeknek tulajdonították [24, 25]. Maujean és Seguin [25] azt találta, hogy pezsgőkben hidrogén-szulfid, metántiol és dimetil-diszulfid (DMDS) képződik megvilágítás hatására. A metántiol és a DMDS felelősek a fehérbor „főtt káposzta” aromájáért. A fénynek kitett Chardonnay borban acetaldehid is képződött [27]. Egy másik vizsgálat során kimutatták, hogy fény hatására megnő az etanol acetaldehiddé való oxidációjának sebessége.

A fehérborokban a kívánt aromavegyületek koncentrációja, beleértve az acetát-észtereket, alkoholokat, zsírsavakat és különösen az etil-észtereket (pl. az etil-hexanoátot és az etil-oktanoátot), csökkenhet fény hatására [4, 6, 28, 29, 30, 31]. Ezekről a vegyületekről kimutatták, hogy a fénynek kitett riboflavint tartalmazó modellbor oldatokban is lebomlanak, ami arra utal, hogy ilyen körülmények között a riboflavin fontos szerepet játszik a lebontásukban [29, 31].

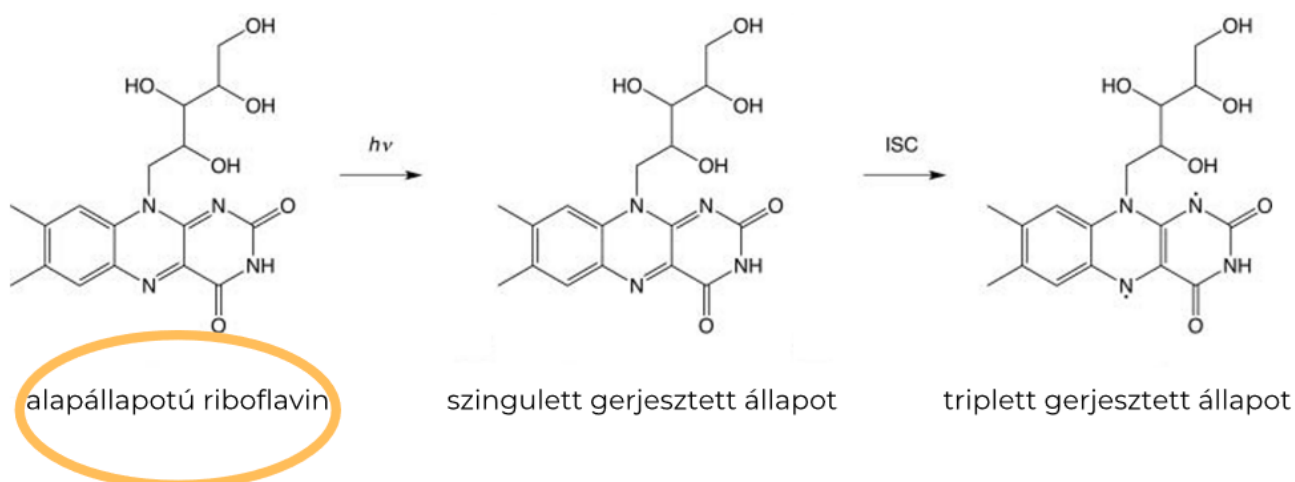
A bor színének fény hatására bekövetkező változásai

Egy korai tanulmány [32] megállapította, hogy a napfénynek való kitettség

megváltoztatja a fehérbor színét. A fény hatása felgyorsíthatja a réz által katalizált bortörések megjelenését is [33, 34]. Viszonylag magas hőmérsékleten (pl. 45°C) a fénynek való kitettség jelentősen felgyorsítja a palackozott fehérborok barnulását. Ez a folyamat nagyobb mértékben tapasztalható fehér és zöld palackok esetén, mint a sötétebb, barnás árnyalatúaknál [5, 27].

Az oxigén- és a kéndioxid-koncentráció változása

A fényexpozíció felgyorsítja az oxigénfelvételt [7, 35] és befolyásolja a palackozott bor redoxpotenciálját is [1, 36]. A palackozott bor redoxpotenciálja az érlelés során csökken, ami összefüggésbe hozható az oxigénfogyasztással [37, 38]. Maujean és munkatársai [1] kimutatták, hogy a Champagne redoxpotenciálja üvegeküvetákban lecsökkent egy szoláris szimulátor lámpa által kibocsátott, 340 vagy 441 nm-en áteresztő színszűrőkön áthaladó fény hatására, azonban alig változott 523 nm-en áteresztő színszűrő esetén. Riboflavin hozzáadása felgyorsította a Champagne redoxpotenciáljának csökkenését a besugárzás során [25]. Blake és munkatársai [6] azt találták, hogy egy fehér palackban lévő rizling bor szabad kéndioxid-koncentrációja 15 W-os kompakt fénycső alatt tárolva alacsonyabb volt, mint a sötétben tárolt minták esetén, 3 és 12 hónap elteltével egyaránt. Ugyanez a tendencia mutatkozott meg a szabad és a kötött kén-dioxid esetében is az azonos körülmények között tárolt Cabernet Franc borban.

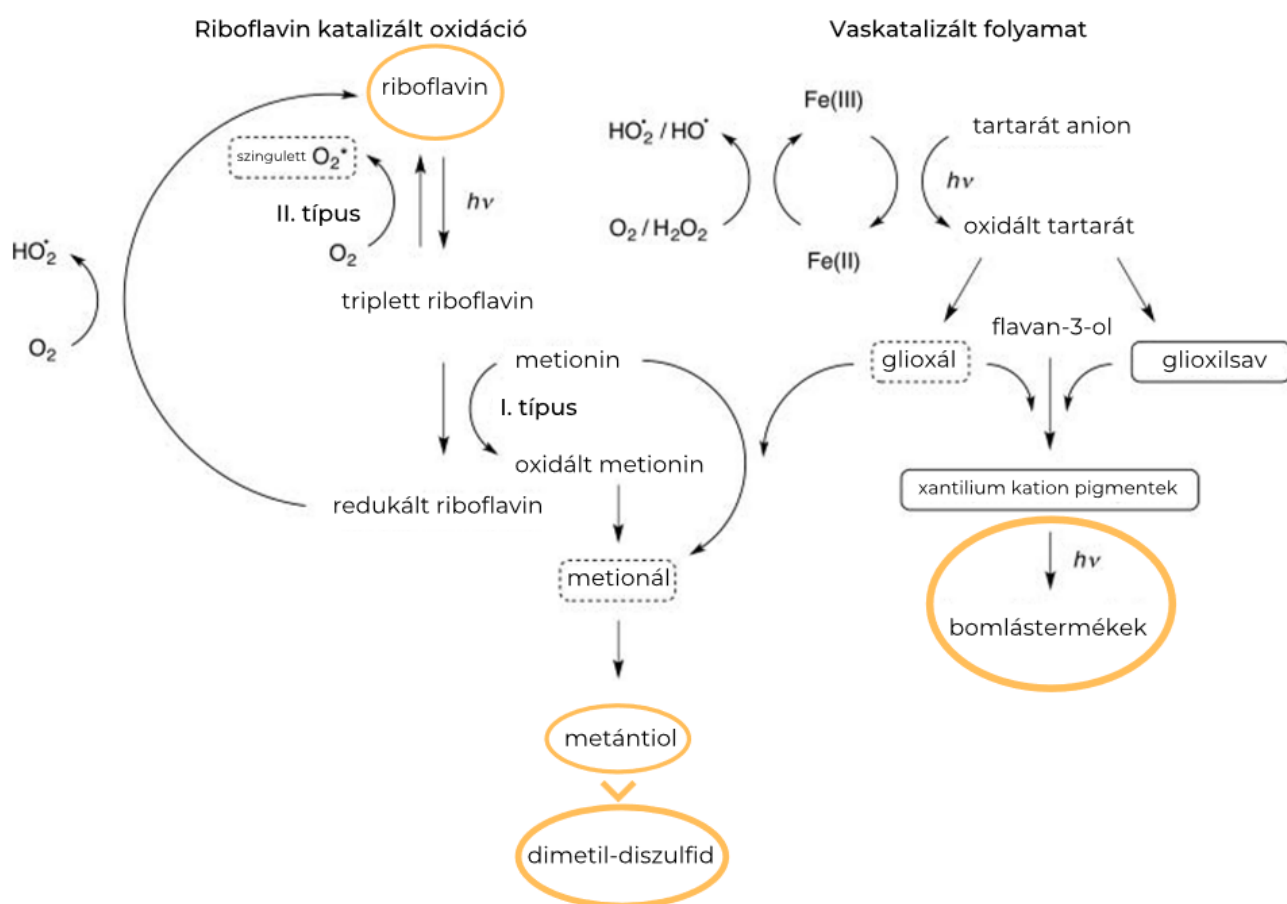


2. ábra. Alapállapotú riboflavin szingulett állapotba történő gerjesztése, majd spin-váltó átmenete triplett állapotba. Az első gerjesztés során vertikális átmenet történik a legalacsonyabb energiájú (S_1) szingulett gerjesztett állapotba a kötések megváltozása nélkül, majd relaxáció spinváltó átmenettel a legalacsonyabb energiájú (T_1) triplett gerjesztett állapotba. Ez utóbbi a reakcióképes molekula. Grant-Preece és munkatársai közleménye alapján [22].

Riboflavinnal szenzitizált oxidáció

A flavinok alkalmas fotoszenzitizáló anyagok, amelyek fény hatására fizikai vagy

kémiai változást idéznek elő szubsztrátumukban [29]. A flavinok magukban foglalják a riboflavint (B2-vitamin) és származékait, a flavin-mononukleotidot (FMN) és a flavin-adenin-dinukleotidot (FAD), amelyek az elektrontranszfer reakciókat katalizáló enzimek kofaktorai [40, 41]. Mattivi és munkatársai [23] arról számoltak be, hogy 85 fehérborot megvizsgálva azokban a riboflavin átlagos koncentrációja körülbelül 100 mg/l, míg az FMN és a FAD szintje elhanyagolható. A riboflavin fény hatására szingulett állapotba gerjesztődik, ami azután spinváltó átmenettel triplett gerjesztett állapotba megy át.



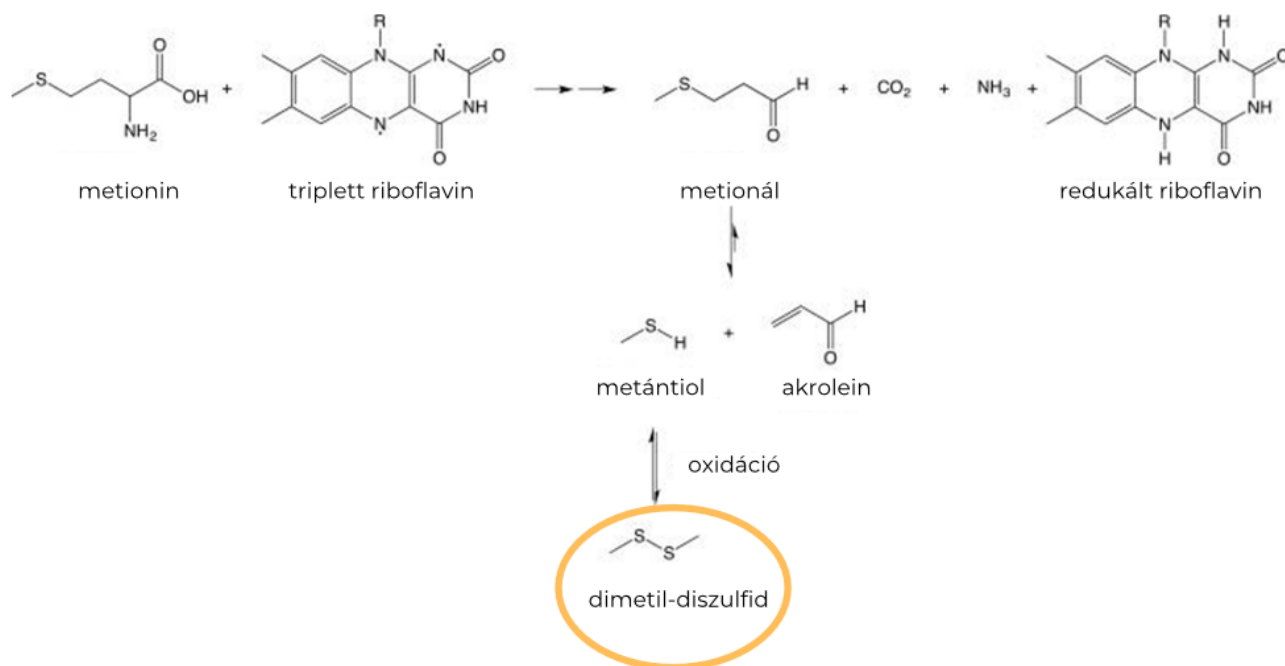
3. ábra. Fehérborok riboflavin- és vaskatalizált oxidációja. A borban vagy oldatban még nem azonosított, de a folyamatban feltételezett vegyületeket szaggatott dobozok jelzik. Grant-Preece és munkatársai közleménye alapján [22].

Illékony kénvegyületek riboflavin-szenzitizált keletkezése

Mattivi és munkatársai [23] kimutatták, hogy az általuk vizsgált 85 fehérbor esetében pozitív korreláció volt a kezdeti riboflavin-koncentráció és a fény által kiváltott mellékaromák intenzitása között. Ezen túlmenően a riboflavin hozzáadása (1 mg/l) 71%-ról 98%-ra növelte azoknak a boroknak az arányát, amelyekben a megvilágítás során mellékaromák alakultak ki. Egy korábbi tanulmány azt is kimutatta, hogy a fehérborok fényízre való érzékenysége a

riboflavin-koncentráció növekedésével általában nő [42]. Mattivi és munkatársai [23] szerint azonban a korreláció erőssége a különböző boroknál eltérő, így más borkomponensek, például kéntartalmú aminosavak, fenolvegyületek és átmenetifém-ionok is szerepet játszhatnak a fényíz kialakulásában a fehérborokban.

Maujean és Seguin [26] kimutatta, hogy a riboflavin, metionin és cisztein Champagne-hoz való hozzáadása megnöveli a metántiol és a DMDS termelését üvegtüvegekben, oxigén hiányában, fény hatására. A riboflavin jelenléte szükséges volt a kénhidrogén, metántiol és DMDS keletkezéséhez metionint és ciszteint tartalmazó modellbor oldatokban. A riboflavin koncentrációja a metionint tartalmazó modellborokban a besugárzás során lecsökkent, majd levegővel érintkezve visszánövekedett, míg metionin hiányában a riboflavin lebomlott [26]. A fényíz kialakulását sörökben is befolyásolja a riboflavin koncentrációja mellett a kéntartalmú aminosavak, a fenolvegyületek, az aszkorbinsav és az oxigén koncentrációja [43, 44].



4. ábra. Metionin riboflavin-szenzitizált oxidációjának [24] által javasolt folyamata fénynek kitett palackozott fehérborban. Grant-Preece és munkatársai közleménye alapján [22].

Anyagok és módszerek

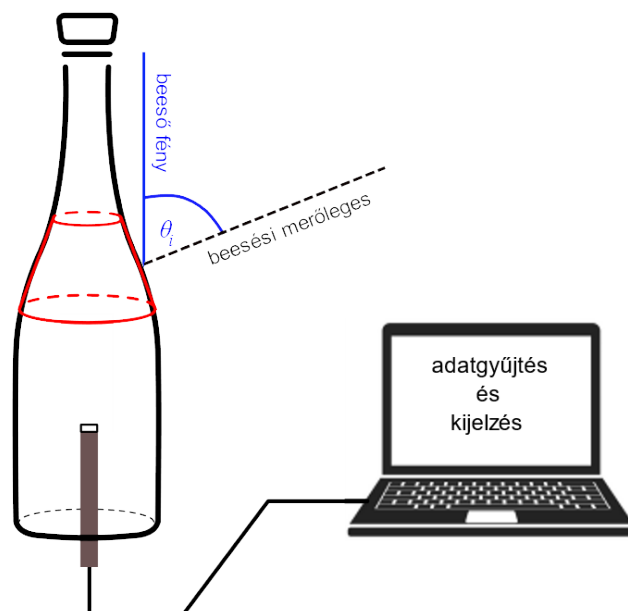
Kísérleti vizsgálataink során különböző borospalackok üveganyagainak fényáteresztését, a palackok *in situ* fényáteresztését, valamint egy fehér bor megvilágítás hatására történő minőségvesztését vizsgáltuk. Ehhez négy

palackot használtunk: fehér (flintüveg) bordóit, türkizkék, karcsú formájú rajnait, világosbarna (magyar borászati szóhasználat: hulló falevél) burgundit és sötétbarna (magyar borászati szóhasználat: olívdzöld) rajnait (7. ábra).

A palackok üvegének fényáteresztését azok oldalából kitört darab spektrofotometriás mérésével határoztuk meg. Mivel a palackok belsejében a szokásos spektrométerekkel nem lehet mérni, az összehasonlíthatóság miatt az üvegdarabok transzmisszióját is egy Avantes által gyártott AvaSpec-2048-USB2 típusú többcélú optikai szálal spektrométer segítségével határoztuk meg. Ennek érzékelőfejből a beérkező fényt az optikai szál egy lineáris CCD (Charge-coupled Device) detektorra továbbítja, aminek érzékelési tartománya 300-tól 1100 nm-ig terjed. Az üvegminta transzmisszióját az azon áthaladó fényintenzitás és a minta eltávolítása után mért beeső fényintenzitás hányadosaként számítottuk. A mérésekhez 555 nm felett wolframszálas izzólámpát, az alatt pedig egy nagynyomású higanylámpát használtunk fényforrásként. A két adatsor nagyon jól egyező eredményt mutatott 555 nm-nél, így azokat összeillesztve kaptuk a teljes UV-látható spektrumot. A leírt módon történt mérések ellenőrzésére az üvegdarab transzmisszióját megmértük egy Agilent Scientific Instruments által gyártott Agilent 8452 diódasoros spektrofotométerben is, azt a mintaküvetta helyére rögzítve, referenciaként küvetta nélkül a levegőt alkalmazva. Az így mért transzmissziós spektrum igen jó egyezést mutatott az optikai szálal módszerrel mért eredményekkel, így az azzal kapott mérési eredményeket hitelesnek tekintettük.

A palackok belsejébe bejutó fény mérésére az 5. ábrán látható elrendezést alkalmaztuk. A palack alját levágtuk, abba bevezettük a spektrométer érzékelőfejét úgy, hogy az a palack tengelye mentén, annak közepén, 20 cm távolságban volt a palack szájától. A megvilágító fény a palackra felülről esett, pontszerű fényforrás esetén a lámpa a dugó felett 1 m távolságban volt. A beeső fényintenzitást a palack eltávolítása után mértük. Mivel ezeknél a méréseknél az üzletek polcain elhelyezett palackok életszerű körülményeit akartuk utánozni, ezért a teljes spektrum mérésére csak egyféle fényforrást alkalmaztunk az *in situ* transzmisszió meghatározása során. Pontszerű fényforrásként a régóta használatos kompakt fénycsövet, valamint az újabban azt felváltó LED lámpát használtuk. Üzletek polcán előfordulhat az is, hogy nagyjából homogén, nagy felületről érkező fény éri a palackokat. Ennek utánzására szabad térben, egy épület árnyékában végeztük a kísérleteket úgy, hogy a palackot 45 fokos szögben megdöntve arra a tiszta nyári égboltról érkezett a fény. A mérőfej

helyzete a palackban megegyezett a függőleges elrendezésnél alkalmazottal. Mivel a palackok vastagsága (2,4 és 3,4 mm között) különböző volt, ezért a Lambert-Beer törvény alkalmazásával a mért transzmissziókat egységesen 3 mm üvegvastagságra normáltuk.



5. ábra. In situ fénymérés a palack belsejében felülről történő megvilágítás esetén, valamint annak optikai modellezése. A palack alját levágtuk, a spektrofotométer mérőfejét a palack közepén függőlegesen, annak szájától 20 cm távolságra helyeztük el. A pontszerű fényforrás a dugó felett, attól 1 m távolságra volt. A transzmisszió optikai modellezéséhez a piros színnel jelölt csonka kúpot illesztettük a palack nyakára, a reflektivitást pedig az (1) és (2) egyenletek szerint számítottuk az ábrán kék színnel jelölt θ_i szög figyelembevételével.

Palackok fényáteresztése optikai modellek alkalmazásával jó közelítéssel ki is számítható. A számítások alapját az (1) és (2) ún. Fresnel egyenletek képezik. Az (1) egyenlet segítségével kiszámíthatjuk a síkban polarizált fény reflektivitását merőleges ($r_{\perp}$), illetve párhuzamos ($r_{\parallel}$) polarizáció esetén az alábbiak szerint:

$$r_{\perp} = -\frac{\sin(\theta_i - \arcsin(\sin \theta_i / n_2))}{\sin(\theta_i + \arcsin(\sin \theta_i / n_2))} \quad r_{\parallel} = \frac{\tan(\theta_i - \arcsin(\sin \theta_i / n_2))}{\tan(\theta_i + \arcsin(\sin \theta_i / n_2))} \quad (1)$$

Ebből a polarizálatlan fény transzmisszióját (T) a következőképpen számíthatjuk:

$$T = 1 - \frac{r_{\perp}^2 + r_{\parallel}^2}{2} \quad (2)$$

A fenti egyenletekben θ_i a beesési szög (az 5. ábrán kék színnel jelölve), n_2 pedig a palack üvegének törésmutatója. A palack fényáteresztő felületét (felülről párhuzamosan beeső fény esetére) egy olyan csonka kúppal modelleztük,

aminek az alaplapjára merőleges irányú párhuzamos fény az alkotójára merőleges beesési merőlegessel szöget zár be. A csonka kúpot úgy választottuk meg – amint az 5. ábrán is látható –, hogy alkotója éppen illeszkedjen a borospalack nyakrészére.

Végeztünk számításokat oldalsó párhuzamos megvilágítás esetére is. Ennél figyelembe kell venni a henger alakú palacktest görbületét, aminek függvényében a beesési szög a merőleges beesésű középponttól távolodva folyamatosan változik, valamint azt is, hogy ezzel együtt az adott apertúrájú párhuzamos fény által megvilágított felület mérete is változik. Ezek figyelembevételével az oldalról megvilágított palackba bejutó fény mennyisége numerikus integrálással határozható meg. A számításokról részletesebben lehet olvasni egy korábbi közleményünkben [45].

Fehérborok fotodegradációját *in situ* fényátersztés-méréseink és az irodalomban rendelkezésre álló adatok alapján fotokémiai modellszámítások segítségével becsültük. Ennek alapját a fény hatására képződő káros aromaanyagok r képződési sebességének számítása képezte a következő összefüggés szerint:

$$r = I_0 \cdot T \cdot A \cdot \Phi \quad (3)$$

A képletben I_0 a beeső fény fluxusa a 320–440 nm hullámhossztartományban bejutó fotonok mólszámával kifejezve, T a palack *in situ* mért transzmissziója, A a bor abszorbananciája a palackban, Φ pedig a káros aromaanyagok keletkezésének kvantumhasznosítási tényezője.

Az így számított reakciósebesség azt mutatja meg, hogy időegységenként mennyi káros (fényízt okozó) aromaanyag keletkezik a palackban. Ha a káros aromaanyagok érzékszervi küszöbértékét elosztjuk az r reakciósebességgel, akkor megkapjuk a polcon megvilágított adott borospalackban a bor polci eltarthatóságának felső határát.

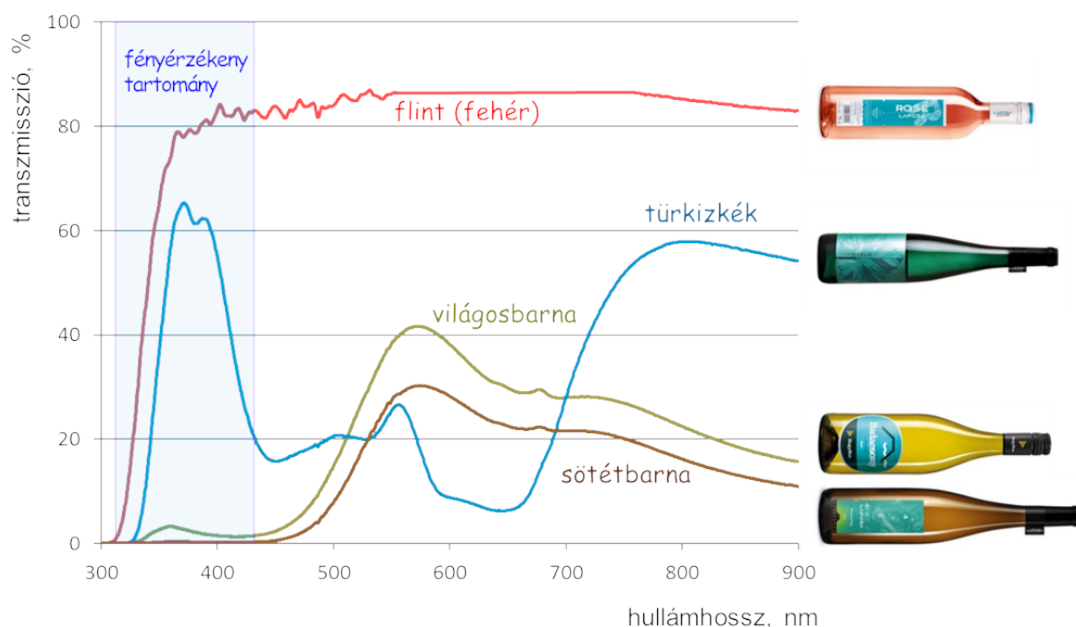
Modellszámításaink megbízhatóságának ellenőrzésére érzékszervi vizsgálatokat is végeztünk különböző ideig megvilágított borospalackok tartalmának kóstolásával. Ezekhez a vizsgálatokhoz a badacsonyi Part Pince 2019-es évjáratú olaszrizling borát használtuk. A bor fontosabb kémiai jellemzői a következők: alkohol 15,35 v/v%, cukor < 1 g/liter, savak 4,6 g/liter, amiből illó

sav 0,3 g/liter, szabad kénessav 15 mg/liter, pH = 3,61. A bort kétféle palackban vizsgáltuk: fehér (flintüveg) bordóiban és türkizkék rajnaiban. A palackokon 60x85 mm méretű címkék voltak a megvilágító 20 W/1250 lm/ 2700K (meleg fehér fényű) kompakt fluorszcens fénycsővel szemben. A palackok a fénycsőtől 40 cm távolságra voltak. A kísérletek az egyébként sötét pincében, 12°C hőmérsékleten zajlottak.

Különböző megvilágítási idők után a kóstolás az ún. háromszög protokoll alapján történt. Eszerint két pohárba azonos (A) mintából, egy harmadikba pedig egy ezekről különböző (B) mintából töltöttek bort, amit az érzékszervi értékelők vakon (annak ismerete nélkül, hogy melyik pohárban mi van) kóstoltak. A kóstolás eredményeként azt kellett eldönteni, hogy van-e különbség a három minta között, és ha igen, melyik az a B, amelyik a másik (azonos A) kettőtől különbözik. Ha találtak különböző mintát, annak eltérő aromajellegét is meghatározták.

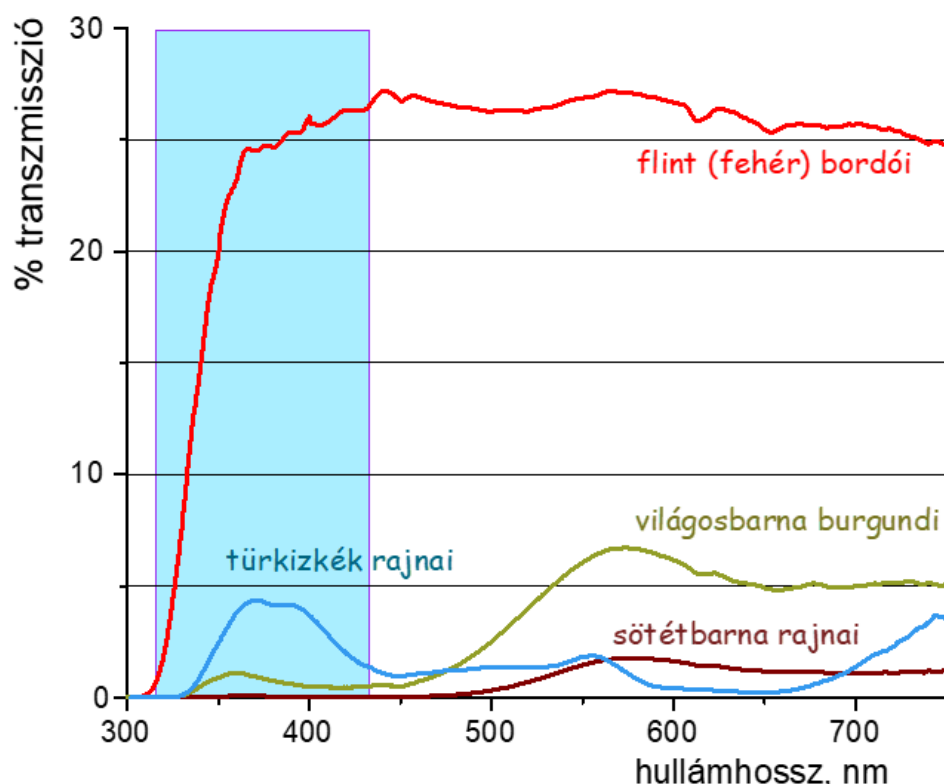
Eredmények

Várakozásainknak megfelelően a palackok üveganyagának áteresztése megfelel az irodalomban található értékeknek [46, 47]. A fehér üveg áteresztőképessége jóval meghaladja a 80%-ot 360 és 440 nm között; a türkizkék üvegé valamivel 60% felett van 360 és 395 nm között; a világosbarna üvegé körülbelül 2% 340 és 390 nm között; míg a sötétbarna áteresztése 0,3% alatti a teljes 320–440 nm-es káros tartományban.



6. ábra. A vizsgált borosüvegek anyagának transzmissziós spektruma.

A borok eltarthatósága szempontjából sokkal életszerűbb azonban, ha az üzletek polcain elhelyezett palackok megvilágítási viszonyai között a palack belsejébe bejutó fény mennyiséggel jellemezzük azok transzmisszióját. Az elérhető szakirodalomban nem találtunk erre vonatkozó méréseket vagy számításokat, ezért a dugózott, kapszulázott és címkézett palackok belsejében is megmértük a bejutó fény intenzitását az 5. ábra szerinti elrendezésben. Ezeknek az *in situ* transzmissziós méréseknek az eredményei láthatók a 6. ábrán, pontszerű fényforrás esetében. A mérésekhez 8 W teljesítményű, 720 lm látható fényt kibocsátó, 4000 K színhőmérsékletű LED lámpát használtunk. Mivel ez 400 nm alatti hullámhosszakon már nem sugároz, ezért 400 nm alatt az üveganyag mért transzmisszióját skáláztuk át úgy, hogy az ezen a hullámhosszon pontosan illeszkedjen az előlött mért *in situ* transzmissziós spektrumhoz. Amint az ábrából látható, a két spektrumrészlet törés nélkül, simán illeszkedik egymáshoz.



7. ábra. A vizsgált borosüvegek *in situ* transzmissziós spektruma. A borosüvegek pontszerű fényforrásból (LED lámpából) felülről történő megvilágításakor a palack belsejében mérhető transzmisszió százalékban kifejezve. A világoskék ablak a fotokémiai káros hullámhossztartományt (320-440 nm) jelöli.

A két transzmissziós spektrum összehasonlításából kiderült, hogy a palackokba ténylegesen bejutó fényintenzitás jelentősen kisebb, mint az üvegek anyagának transzmissziója. A káros hullámhossz-tartományban a fehér palack transz-

missziója 80% felettiről kb. 25%-ra, a türkizkék palacké 60% felettiről 5% alá csökken, míg a világosbarna palacké csak 1% körüli, a sötétbarnáé pedig elhanyagolhatóan kicsi. Homogén megvilágítás esetén (tisztá égbolt árnyékban) a palackok ennél nagyjából kétszer több fényt eresztettek be, ami a palack színétől és alakjától valamelyest függött. Ennek magyarázata az, hogy nagy kiterjedésű homogén fényforrásból széles látószögben, sok irányból érkezik a fény a palackok felületére.

Amint azt az Anyagok és módszerek fejezetben leírtuk, a transzmissziós mérések során megmértük a fényforrásokból a palackokra érkező beeső fény intenzitását is, ami gyakorlatilag a fényforrások emissziós spektrumával egyezik meg. Ezekből a mérésekből az derült ki, hogy a napfény emissziós spektruma nagyon jelentős intenzitású mind az UV-A, mind az ibolya komponensekben. A kompakt fluoreszcens lámpákban lévő higanygőz – ami a fénycső felületén lévő fényport gerjeszti – intenzív sugárzása 405 és 436 nm hullámhosszon mindig átjön a csövek falán, így annak borkárosító hatása is jelentős. Ezekhez képest a (manapság már nem használatos) izzólámpák csak az ibolyaszínű tartomány felső végében sugároznak nem túl nagy mértékben, az újabban terjedő LED lámpák pedig még ezeknél is kisebb mértékben.

In situ fényméréseink mellett modellszámításokat is végeztünk a palackokba bejutó fény mennyiség becslésére, az Anyagok és módszerek fejezetben leírtak szerint. Amint az 5. ábra alapján is látszik, a geometriai modell meglehetősen egyszerűsített, ezért nagyon pontos egyezésre nem is számítottunk. Eredményeink azt mutatják, hogy a számított *in situ* transzmisszió minden esetben nagyobb, mint a mért. Ez a palackok élettartam-becslése szempontjából azt jelenti, hogy az élettartam-számítások minden esetben biztonságos időtartamot (rövidebb eltarthatóságot) jeleznek előre, azaz nem kockáztatják a fényíz idő előtti kialakulását. A tömörsébb bordói és burgundi palackok esetében ez a felülbecslés 2- illetve 2,9-szeres, míg a karcsúbb sötétbarna és türkizkék palackok esetében 3-, illetve 8-szoros. A nagyobb eltérés oka lehet, hogy a rajnai palackokhoz a modellszámítások alapját képező csonka kúp kevésbé illeszkedik, mint a másik két típushoz, a türkizkék palack címkéje pedig sokkal nagyobb, mint a másik háromé. Abban az esetben, ha a 320–440 nm-es káros hullámhossz-tartományban nem rendelkezünk a fényáteresztés mérési adataival, a modellszámítások segíthetnek a hatékony védelem tervezésében, lévén mindig túlbecsülik a fény mennyiségét.

A palackok káros hullámhossz-tartománybeli fényátersztésének és a fényforrás fotonfluxus-sűrűségének ismeretében kiszámíthatjuk a fényízt okozó aromaanyagok képződési sebességét, ebből pedig a polci élettartamot. A fotonfluxus-sűrűséget napfény esetén irodalmi adatokból [48] határoztuk meg a káros hullámhossz-tartományon belüli numerikus integrálással. Kompakt fénycsövek esetében azt tapasztaltuk, hogy hasonló fényhőmérsékletű csövek emissziós spektruma nagyon hasonlít egymáshoz. Erre támaszkodva irodalmi adatokból [49] hasonlóképpen meghatároztuk egy ismert látható fényteljesítményű fénycső fotonfluxusát a káros tartományban, amit arányosnak feltételeztünk a fényteljesítménnyel, így átszámíthattuk azt az általunk használt fénycsövekkel történő megvilágításra is, mivel ismertük azok fényteljesítményét [45]. Fraccasetti és munkatársai [50] adatai alapján a CH_3SH észlelési küszöbe $10 \mu\text{g/l}$, a DMDS-é pedig $45 \mu\text{g/l}$. A reakciósebesség számításához e két adat átlagát, átszámítva 300 nmol/l küszöbértéket használtunk. Számításaink eredményét az 1. táblázatban foglaljuk össze.

1. táblázat. A vizsgált palackokban lévő fehérbor számított eltarthatósági ideje különböző megvilágítási viszonyok között (polci élettartam)

Üveg típusa	Megvilágítás	Transzmisszió 350 nm-en	Polci élettartam (óra)	Polci élettartam (nap)
Fehér bordói	napfény	33,8%	0,08	0,0
	CFL erős ¹	19,7%	3,6	0,3
	CFL gyenge ²	19,7%	17,8	1,5
Türkizkék rajnai	napfény	4,3%	0,63	0,1
	CFL erős	2,4%	29,0	2,4
	CFL gyenge	2,4%	144,9	12,1
Világosbarna burgundi	napfény	1,0%	2,72	0,2
	CFL erős	0,9%	79,1	6,6
	CFL gyenge	0,9%	396	33,0
Sötétbarna rajnai	napfény	0,06%	45,4	3,8
	CFL erős	0,04%	1761	147
	CFL gyenge	0,04%	8804	734
Kóstoló kísérlet				
Fehér bordói	CFL 313 lux	19,7%	5,7	0,5
Türkizkék rajnai	CFL 313 lux	2,4%	46,3	3,9

1 „CFL erős”: 500 lux, erős bolti megvilágítás kompakt fénycsővel.

2 „CFL gyenge”: 100 lux, gyengébb bolti megvilágítás kompakt fénycsővel.

Amint a táblázatban látható, a számítások szerint fehér bordói palackok esetében napfény hatására a borokban percekben belül megjelenik a fényíz, erős

mesterséges megvilágítás esetén pedig 4 óránál, gyenge megvilágítás esetén 18 óránál hamarabb. Türkizkék rajnai palackok esetén gyenge megvilágítás mellett a borok 12 napig tarthatók polcon kedvezőtlen érzékszervi változás nélkül. Világosbarna burgundi palackokban a borok egy hónapon belül nem változnak észrevehető mértékben. Sötétbarna rajnai palackokban a borok még erős megvilágítás mellett is közel fél évig tárolhatók kedvezőtlen hatás nélkül; gyenge megvilágításnál pedig több mint két évig.

Érzékszervi vizsgálataink alátámasztják számításaink eredményeinek megbízhatóságát. Kóstolási kísérleteink során 15, 75, illetve 150 óra megvilágítás után azt vizsgáltuk, hogy érezhető-e már a jellegzetes fényíz a borokban. Azt tapasztaltuk, hogy a fehér palackokban már 15 óra után kialakulnak a kellemetlen aromák, míg a türkizkék palackokban csak 75 óra megvilágítást követően.

A fehér bordói üvegekben lévő bor illatában 15 óra után már érezhetőek voltak vegetális (főtt káposzta, kukorica) jegyek. Két nappal későbbi újra kóstolás után (megvilágítás nélkül) pedig már a bor íze is megváltozott. 75 óra megvilágítás után oxidációs aromák jelentek meg, illetve záptojás- és hagymaszag, valamint csökkent a savérzet is. Ezek az illatok és aromák tovább erősödtek 150 óra megvilágítás után, és a mintákban erősödött a vegetális jelleg (spárga). Ezek az aroma- és ízjegyek a kéntartalmú anyagokhoz és oxidációs termékekhez kapcsolódnak, a borban azonban semmilyen barnulás nem volt tapasztalható még 150 óra megvilágítás után sem.

A türkizkék rajnai üvegekben lévő borban 15 óra megvilágítás után még nem volt észlelhető változás. 75 óra megvilágítás után ugyanazok az oxidatív és fénykárosodásból eredő aromák voltak jelen, mint a megvilágított fehér bordói palackban lévő mintában, némi „vizes gyapjú” ízzel és csökkent savérzettel. A minták között azonban nem volt lényeges különbség 75 és 150 óra megvilágítás után.

Az érzékszervi vizsgálatban kóstolt bor nem rendelkezett erőteljes észter profillal, így a citrusos jelleg csökkenése ebben az esetben nem volt megfigyelhető, de korábbi irodalmi adatok szerint ezek a jegyek (fajtajelleg) is nagymértékben változnak fénykárosodás esetén [3].

Eredmények értékelése

Vizsgálatunk célja az volt, hogy *in situ* mérjük a borosüvegek fényáteresztését, illetve azt optikai modellezés alapján is kiszámítsuk. Eredményeink szerint jóval kevesebb fény jut be a palackokba, mint amennyit maga az üveg anyaga átenged. Természetes fény, azaz napsütés esetén a transzmisszió nagyobb, mint a mesterséges, pontszerű fényforrásokból származó megvilágítás esetén, mivel homogén, nagy felületről érkező fény éri a palackokat. Ezen adatok birtokában ki tudjuk számítani az üvegen átjutó fotonok fluxusát, abból pedig a fényízt okozó káros aromaanyagok keletkezésének sebességét. A reakciósebességi adatokból így becsülhető a különböző formájú és anyagú palackokban tárolt fehérborok polci élettartalma.

A fehér (flint) és a türkizkék üvegek jelentős mértékben átengedik a fényt a 320 és 440 nm közötti tartományban, ami rövid idő alatt a fényíz megjelenését és az aromaanyagok lebomlását okozza. A barnás árnyalatú üvegek lényegesen kevesebb fényt engednek át a káros hullámhossz-tartományban, különösen a sötét tónusúak. A fehérborok fehér és türkizkék palackban csak néhány napig, míg a világosbarna árnyalatú üvegekben körülbelül egy hónapig, a sötétbarna árnyalatú üvegekben pedig egy évnél tovább tarthatóak el fény okozta észrevehető károsodás nélkül. A fehér (flint) és a türkizkék üvegek esetében az érzékszervi vizsgálat megerősíti számítási eredményeink reális voltát, valamint azok összhangban állnak korábban publikált vizsgálatok eredményeivel is.

Ezek egyértelműen azt támasztják alá, hogy az átlátszó fehér (flint) és a türkizkék üvegek borászati alkalmazása kerülendő. (Megjegyezzük itt, hogy ugyanez vonatkozik a zöld színű palackokra is, mivel azok káros tartománybeli fényáteresztése gyakorlatilag megegyezik az általunk vizsgált türkizkék üvegével [47].) A fényíz kialakulásának elkerülésére megoldást jelenthet a napfény teljes kizárása és olyan mesterséges világítás használata, amelynek minimális a sugárzása a káros 320–440 nm-es hullámhossz-tartományban. Nyilvánvaló, hogy a kompakt fénycsövek nem alkalmasak erre a célra, mivel mindegyikben jelen van a higanygőz két jellemző csúcsa (405 és 436 nm). Az általunk mért fényforrások emissziós spektrumai alapján a „meleg fehér” LED lámpák alkalmasabbak erre a célra, mivel kibocsátásuk a kritikus hullámhossz-tartományban viszonylag kicsi.

A bor vegyi anyagokkal történő kezelése, illetve a riboflavin és pantoténsav eltávolítása szerintünk nem indokolt, mert azzal jelentősen beavatkozunk a bor

szerkezetébe. A derítéshez (tisztításhoz) egyébként is használt bentonit és szén viszont csökkenti a riboflavin mennyiségét a borokban, így ezen anyagok használata valamennyire csökkentheti a fényíz kialakulásának kockázatát [50].

Köszönetnyilvánítás

Köszönetet mondunk Dr. Vesztergom Soma (ELTE, Kémiai Intézet) egyetemi adjunktusnak a mérések során nyújtott közreműködéséért, továbbá Part Róbertnek részvételéért az érzékszervi bírálatban.

Irodalomjegyzék

- [1] Maujean, A., Haye, M., Feuillat, M. (1978) Contribution à l'étude des « goûts de lumière » dans le vin de champagne. II. Influence de la lumière sur le potentiel d'oxydoreduction. Corrélation avec la teneur en thiols du vin. *Connaissance Vigne et Vin*, **12**: 277–290.
- [2] Kállay, M. (2010) Borászati kémia. (Mezőgazda Kiadó) pp. 206.
- [3] Dozon, N.M., Noble, A.C. (1989) Sensory Study of the Effect of Fluorescent Light on a Sparkling Wine and Its Base Wine. *Am J Enol Vitic*, **40**: 265–271.
- [4] Benítez, P., Castro, R., Natera, R., García Barroso, C. (2006) Changes in the polyphenolic and volatile content of „Fino” sherry wine exposed to high temperature and ultraviolet and visible radiation. *Eur Food Res Technol*, **222**: 302–309.
- [5] Dias, D.A., Smith, T.A., Ghiggino, K.P., Scollary, G.R. (2012) The role of light, temperature and wine bottle colour on pigment enhancement in white wine. *Food Chem*, **135**: 2934–2941.
- [6] Blake, A., Kotseridis, Y., Brindle, I.D., Inglis, D., Pickering, G.J. (2010) Effect of light and temperature on 3-alkyl-2-methoxypyrazine concentration and other impact odourants of Riesling and Cabernet Franc wine during bottle ageing. *Food Chem*, **119**: 935–944.
- [7] Singleton, V.L. (1987) Oxygen with phenols and related reactions in musts, wines, and model systems: Observations and practical implications. *Am J Enol Viticult*, **38**: 69–77.
- [8] Ugliano, M. (2013) Oxygen contribution to wine aroma evolution during bottle aging. *J Agric Food Chem*, **61**: 6125–6136.
- [9] Danilewicz, J.C. (2003) Review of reaction mechanisms of oxygen and proposed intermediate reduction products in wine: Central role of iron and copper. *Am J Enol Viticult*, **54**: 73–85.
- [10] Chiron, F., Chalchat, J.C., Garry, R.P., Pilichowski, J.F., Lacoste, J. (1997) Photochemical hydroperoxidation of terpenes I. Synthesis and

- characterization of α -pinene, β -pinene and limonene hydroperoxides. *J Photochem Photobiol Chem*, **111**: 75–86.
- [11] Jung, M.Y., Yoon, S.H., Lee, H.O., Min, D.B. (1998) Singlet oxygen and ascorbic acid effects on dimethyl disulfide and off-flavor in skim milk exposed to light. *J Food Sci*, **63**: 408–412.
- [12] Min, D.B., Boff, J.M. (2002) Chemistry and reaction of singlet oxygen in foods. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, **1**: 58–72.
- [13] Jiang, L.Y., He, S., Jiang, K.Z., Sun, C.R., Pan, Y.J. (2010) Resveratrol and its oligomers from wine grapes are selective $^1\text{O}_2$ quenchers: Mechanistic implication by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry and theoretical calculation. *J Agric Food Chem*, **58**: 9020–9027.
- [14] Danilewicz, J.C. (2007) Interaction of sulfur dioxide, polyphenols, and oxygen in a wine-model system: Central role of iron and copper. *Am J Enol Viticult*, **58**: 53–60.
- [15] Clark, A.C., Scollary, G.R. (2003) Influence of light exposure, ethanol and copper (II) on the formation of a precursor for xanthylum cations from tartaric acid. *Aus J Grape Wine Res*, **9**: 64–71.
- [16] Clark, A.C., Prenzler, P.D., Scollary, G.R. (2007) Impact of the condition of storage of tartaric acid solutions on the production and stability of glyoxylic acid. *Food Chem*, **102**: 905–916.
- [17] Clark, A.C., Dias, D.A., Smith, T.A., Ghiggino, K.P., Scollary, G.R. (2011) Iron(III) tartrate as a potential precursor of light induced oxidative degradation of white wine: Studies in a model wine system. *J Agric Food Chem*, **59**: 3575–3581.
- [18] Elias, R.J., Andersen, M.L., Skibsted, L.H., Waterhouse, A.L. (2009) Identification of free radical intermediates in oxidized wine using electron paramagnetic resonance spin trapping. *J Agric Food Chem*, **57**: 4359–4365.
- [19] Waterhouse, A.L., Laurie, V.F. (2006) Oxidation of wine phenolics: A critical evaluation and hypotheses. *Am J Enol Viticult*, **57**: 306–313.
- [20] Boulton, R.B., Singleton, V.L., Bisson, L.F., Kunkee, R.E. (1996) Principles and practices of winemaking. Chapman & Hall, New York.
- [21] Li, H., Guo, A., Wang, H. (2008) Mechanisms of oxidative browning of wine. *Food Chem*, **108**: 1–13.
- [22] Grant-Preece P., Barril C., Schmidtke L.M., Scollary G.R., Clark A.C. (2017) Light-induced changes in bottled white wine and underlying photochemical mechanisms. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **57**: 743–754.

- [23] Mattivi, F., Monetti, A., Vrhovsek, U., Tonon, D., Andres-Lacueva, C. (2000) High performance liquid chromatographic determination of the riboflavin concentration in white wines for predicting their resistance to light. *Journal of Chromatography A*, **888**: 121–127.
- [24] Haye, G., Maujean, A., Jacquemin, C., Feuillat, M., (1977) Contribution à l'étude des „goûts de lumière” dans le vin de Champagne. I. Aspects analytiques. Dosage des mercaptans et des thiols dans les vins. *Connaiss Vigne Vin*, **11**: 243–54.
- [25] Maujean, A., Seguin, N., (1983) Contribution à l'étude des „goûts de lumière” dans les vins de Champagne. 3. Les reactions photochimiques responsables des „goûts de lumière” dans le vin de Champagne. *Sci Aliment*, **3**: 589–601
- [26] Maujean, A., Seguin, N., (1983) Contribution à l'étude des „goûts de lumière” dans les vins de Champagne. 4. Approches à une solution oenologique des moyens de prevention des „goûts de lumière”. *Sc. Aliment*, **3**: 603–13.
- [27] Dias, D.A., Clark, A.C., Smith, T.A., Ghiggino, K.P., Scollary, G.R. (2013) Wine bottle colour and oxidative spoilage: Whole bottle light exposure experiments under controlled and uncontrolled temperature conditions. *Food Chem*, **138**: 2451–2459.
- [28] Benítez, P., Castro, R., García Barroso, C. (2003) Changes in the polyphenolic and volatile contents of „Fino” sherry wine exposed to ultraviolet and visible radiation during storage. *J Agric Food Chem*, **51**: 6482– 6487.
- [29] D'Auria, M., Emanuele, L., Mauriello, G., Racioppi, R. (2003) On the origin of „goût de lumière” in Champagne. *J Photochem Photobiol Chem*, **158**: 21–26.
- [30] Jung, R., Hey, M., Hoffmann, D., Leiner, T., Patz, C.D., Rauhut, D., Schüssler, C., Wirsching, M. (2007) Lichteinfluss bei der Lagerung von Wein. *Mitt Klosterneuburg*, **57**: 224–231.
- [31] Cellamare, L., D'Auria, M., Emanuele, L., Racioppi, R. (2009) The effect of light on the composition of some volatile compounds in wine: An HS-SPME-GC-MS study. *Int J Food Sci Technol*, **44**: 2377–2384.
- [32] Sato, S., Nakamura, K., Tadenuma, M., Motegi, K. (1970) Effects of light rays on the colour of alcoholic beverages. *J Soc Brew Jpn*, **65**: 433–438.
- [33] Amerine, M. A., Joslyn, M.A. (1970) Table wines. The technology of their production. 2nd ed. (University of California Press, Berkeley and Los Angeles).

- [34] Ribereau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubourdieu, D. (2006) Handbook of enology. Volume 2. The chemistry of wine stabilization and treatments. 2nd ed. (John Wiley & Sons, Ltd, Chichester) pp. 451.
- [35] Rossi, J.A., Singleton, V.L. (1966) Contributions of grape phenols to oxygen absorption and browning of wines. *Am J Enol Viticult*, **17**: 231–239.
- [36] Tomlinson, J.W., Kilmartin, P.A. (1997) Measurement of the redox potential of wine. *J Appl Electrochem*, **27**: 1125–1134.
- [37] Kilmartin, P.A., Zou, H. (2001) The effect of electrode material on the measured redox potential of red and white wines. *Electroanalysis*, **13**: 1347–1350.
- [38] Danilewicz, J.C. (2012) Review of oxidative processes in wine and value of reduction potentials in enology. *Am J Enol Viticult*, **63**: 1–10.
- [39] Bekbölet, M. (1990) Light effects on food. *J Food Protect*, **53**: 430–440.
- [40] Heelis, P.F. (1982) The photophysical and photochemical properties of flavins (isoalloxazines). *Chem Soc Rev*, **11**: 15–39.
- [41] Müller, F. (1983) The flavin redox-system and its biological function. In: Radicals in Biochemistry. **108**: (Springer, Berlin and Heidelberg) pp. 71–107.
- [42] Pichler, U. (1996) Analisi della riboflavina nei vini bianchi e influenza della sua concentrazione. *Enotecnico*, **32**: 57–62.
- [43] Gray, P., Stone, I., Rothschild, H. (1941) The action of sunlight on beer. *Wallerstein Lab Commun*, **4**: 29–40.
- [44] Kuroiwa, Y., Hashimoto, N., Hasnimoto H., Kukovoe E., Nakagawa, K., (1963) Factors essential for the evolution of sunstruck flavor. *Proc. Am. Soc. Brew. Chem.*, pp. 181–93.
- [45] Laposa, Z., Vesztergom, S., Kocsis, M., Keszei, E. (2023) In situ measurement of light transmission into wine bottles and calculation of shelf life. *OENO One*, **57**(1): 265–277.
- [46] Dias, D. A., Ghiggino, K. P., Smith, T. A., Scollary, G. R. (2010) Wine Bottle Colour and Oxidative Spoilage. The University of Melbourne, Melbourne.
- [47] Hartley, A. (2008) The effect of ultraviolet light on wine quality. Waste and Resources Action Program, Oxon.
- [48] NREL (2003). The National Renewable Energy Laboratory.
- [49] Eadie, E., Ferguson, J., Moseley, H., (2009) Preliminary investigation into the effect of exposure of photosensitive individuals to light from compact fluorescent lamps. *British Journal of Dermatology*, **160**: 659–64.
- [50] Fracassetti, D., Di Canito, A., Bodon, R., Messina, N., Vigentini, I., Foschino, R., Tirelli, A., (2021) Light-struck taste in white wine: Reaction

mechanisms, preventive strategies and future perspectives to preserve wine quality. *Trends in Food Science & Technology*, **112**: 547–558.



Keszei Ernő emeritus professzor 1975-ben szerzett vegyész diplomát, 1978-ban doktori címet az ELTE-n. 14 évig az ELTE Fizikai Kémiai Tanszék vezetője volt, három évig az ELTE tudományos rektorhelyettese. Négy évet töltött Kanadában vendégkutatóként. Folyadékok szerkezetvizsgálatát követően elektronok és szilárd filmek kölcsönhatásával, majd elektronok folyadékokban történő oldódásával foglalkozott ultragyors lézer-fotokémiai módszerek alkalmazásával. Két angol nyelvű fizikai-kémiai témájú egyetemi tankönyve jelent meg a Springer kiadó gondozásában. Jelenleg fehérjekinetikai vizsgálatokkal és borok fotokémiai károsodásának tanulmányozásával foglalkozik.



Laposa Zsófia borász 2010-ben szerzett élelmiszer-mérnöki diplomát a Budapesti Corvinus Egyetemen. 2013-ban Bordóban, a francia tannyelvű Université Bordeaux Segalen ISVV-n végzett, ahol szőlész-borász mesterfokozatot szerzett. Szakmai gyakorlaton volt Kaliforniában, Bordóban, Elzászban, Burgundiában és Egerben. 2009-ben Erasmus hallgatóként öt hónapot töltött Valenciában, ahol szőlész-borász mesterképzésen vett részt az Universidad Politécnica de Valencia kampuszán. 15 éves borászati tapasztalattal rendelkezik, melyből főborásként 8 évet töltött Badacsonyban a Laposa Birtokon. Jelenleg a Pécsi Tudományegyetem Természettudományi Karán a Biológiai és Sportbiológiai Doktori Iskola hallgatója. Témája a palackozott borok fotodegradációjának vizsgálata különböző fényforrások hatására.

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, 2022-2023.02.

(Szerkesztette: Sarkadi Balázs)

A szerzők által 2023. március 1-ig beküldött cikkek (a közlemények első oldala is mellékelve):

Somogyvári, M., Khatatneh, S., Sőti, C. (2022) Hsp90: From Cellular to Organismal Proteostasis. *Cells*, **11**: 2479, <https://doi.org/10.3390/cells11162479>

<https://www.mdpi.com/2073-4409/11/16/2479/htm>

Dobó, J., Kocsis, A., Dani, R., Gál, P. (2022) Proprotein Convertases and the Complement System. *Front Immunol*, 6;13:958121. doi: 10.3389/fimmu.2022.958121. PMID: 35874789; PMCID: PMC9296861.

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2022.958121/full>

Orbán T.I. (2023) One locus, several functional RNAs-emerging roles of the mechanisms responsible for the sequence variability of microRNAs. *Biol Futur*, doi: 10.1007/s42977-023-00154-7. Epub ahead of print. PMID: 36847925.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36847925/>



Review

Hsp90: From Cellular to Organismal Proteostasis

Milán Somogyvári *, Saba Khatatneh and Csaba Söti *

Department of Molecular Biology, Semmelweis University, H-1085 Budapest, Hungary

* Correspondence: somogyvari.milan@med.semmelweis-univ.hu (M.S.);
soti.csaba@med.semmelweis-univ.hu (C.S.)

Abstract: Assuring a healthy proteome is indispensable for survival and organismal health. Proteome disbalance and the loss of the proteostasis buffer are hallmarks of various diseases. The essential molecular chaperone Hsp90 is a regulator of the heat shock response via HSF1 and a stabilizer of a plethora of signaling proteins. In this review, we summarize the role of Hsp90 in the cellular and organismal regulation of proteome maintenance.

Keywords: Hsp90; proteostasis; stress; chaperones; development; cancer; neurodegenerative disease; obesity; aging



Citation: Somogyvári, M.; Khatatneh, S.; Söti, C. Hsp90: From Cellular to Organismal Proteostasis. *Cells* **2022**, *11*, 2479. <https://doi.org/10.3390/cells11162479>

Academic Editor: Mark R. Wilson

Received: 30 June 2022

Accepted: 28 July 2022

Published: 10 August 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 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. Cellular Proteostasis

The mechanism that ensures that the protein pool of the cell is kept in a healthy, functional state is called the proteostasis machinery. Proteostasis is maintained through the cumulative work of multiple cellular processes, starting with protein synthesis, quality control steps that ensure functional conformation and finally, protein degradation through various means. During protein synthesis, “translation factors” are needed for a finely tuned process [1]. As a protein is being produced by the ribosome, it is folded into its three-dimensional conformation. The main components of this machinery are molecular chaperones and their co-chaperones; many of them are heat shock proteins (HSPs). Chaperones themselves do not catalyze any chemical reactions that are necessary for the stability of the functional 3D protein structure, but rather they can relax incorrectly folded parts of the peptide chain, thus making it easier for the polypeptide to find the right energy-minimum state required. Properly folded proteins are targeted with the help of chaperones to places where they can exert their function. Finally, unwanted or erroneous proteins are disposed by protein degradation through the ubiquitin-proteasome system or autophagy, followed by lysosomal proteolysis. The compartmentalization of cellular processes led to the development of compartment-specific proteostasis pathways (Figure 1).

1.1. The Cytoplasmic Heat Shock Response (HSR)

The cytosolic protein pool is maintained by the heat shock response (HSR) (Figure 1a). The key regulator of HSR is the highly conserved heat shock transcription factor HSF1. Under normal conditions, HSF1 is kept in an inactive, monomeric form by chaperones Hsp70 and Hsp90. In response to proteotoxic stress, chaperones are recruited to misfolded proteins that accumulate in the cytosol, which releases HSF1. Free HSF1 forms homotrimers, translocates into the nucleus, binds to heat shock elements (HSE), and induces the transcription of various molecular chaperones (heat shock proteins, HSPs), trafficking and proteolytic genes, which in turn restore cytosolic protein homeostasis, either by refolding or degrading misfolded proteins [2]. HSF1 is also regulated by multiple post-translational modifications (PTMs). For example, the SIRT1 deacetylase is able to prolong promoter-binding of HSF1 by removing an inhibitory acetyl group [3]. This points to a necessity for fine-tuned activation of the HSR through HSF1 in order to exert a proper response to any proteotoxic harm that might appear in the cytosol.



Proprotein Convertases and the Complement System

József Dobó*, Andrea Kocsis, Ráhel Dani and Péter Gál*

Institute of Enzymology, Research Centre for Natural Sciences, Budapest, Hungary

OPEN ACCESS

Edited by:

Simon John Clark,
University of Tübingen, Germany

Reviewed by:

Angela Armento,
University of Tübingen, Germany
Kenneth Reid,
University of Oxford, United Kingdom

*Correspondence:

József Dobó
dobo.jozsef@ttk.hu
Péter Gál
gal.peter@ttk.hu

Specialty section:

This article was submitted to
Molecular Innate Immunity,
a section of the journal
Frontiers in Immunology

Received: 31 May 2022

Accepted: 13 June 2022

Published: 06 July 2022

Citation:

Dobó J, Kocsis A, Dani R and Gál P
(2022) Proprotein Convertases
and the Complement System.
Front. Immunol. 13:958121.
doi: 10.3389/fimmu.2022.958121

Proteins destined for secretion - after removal of the signal sequence - often undergo further proteolytic processing by proprotein convertases (PCs). Prohormones are typically processed in the regulated secretory pathway, while most plasma proteins travel through the constitutive pathway. The complement system is a major proteolytic cascade in the blood, serving as a first line of defense against microbes and also contributing to the immune homeostasis. Several complement components, namely C3, C4, C5 and factor I (FI), are multi-chain proteins that are apparently processed by PCs intracellularly. Cleavage occurs at consecutive basic residues and probably also involves the action of carboxypeptidases. The most likely candidate for the intracellular processing of complement proteins is furin, however, because of the overlapping specificities of basic amino acid residue-specific proprotein convertases, other PCs might be involved. To our surprise, we have recently discovered that processing of another complement protein, mannan-binding lectin-associated serine protease-3 (MASP-3) occurs in the blood by PCSK6 (PACE4). A similar mechanism had been described for the membrane protease corin, which is also activated extracellularly by PCSK6. In this review we intend to point out that the proper functioning of the complement system intimately depends on the action of proprotein convertases. In addition to the non-enzymatic components (C3, C4, C5), two constitutively active complement proteases are directly activated by PCs either intracellularly (FI), or extracellularly (MASP-3), moreover indirectly, through the constitutive activation of pro-factor D by MASP-3, the activity of the alternative pathway also depends on a PC present in the blood.

Keywords: complement system, proprotein convertase, lectin pathway, alternative pathway, classical pathway, protein secretion and processing, MASP-3

SYNOPSIS OF THE COMPLEMENT SYSTEM

The complement system (**Figure 1A**) is an integral part of the immune system. It is the most powerful molecular effector arm of the innate immune system, but it is also connected to the adaptive immunity in many ways [for reviews see (1–4)]. The most important components of the complement system are serine proteases (**Figure 1B**), which form a proteolytic cascade system (5). Other components include pattern recognition molecules (C1q, MBL, ficolins), the thioester-containing molecules (C3, C4), the components of the membrane attack complex (C5, C6, C7, C8, C9), membrane-bound receptors and



One locus, several functional RNAs—emerging roles of the mechanisms responsible for the sequence variability of microRNAs

Tamás I. Orbán¹

Received: 24 November 2022 / Accepted: 8 February 2023
© The Author(s) 2023

Abstract

With the development of modern molecular genetics, the original “one gene-one enzyme” hypothesis has been outdated. For protein coding genes, the discovery of alternative splicing and RNA editing provided the biochemical background for the RNA repertoire of a single locus, which also serves as an important pillar for the enormous protein variability of the genomes. Non-protein coding RNA genes were also revealed to produce several RNA species with distinct functions. The loci of microRNAs (miRNAs), encoding for small endogenous regulatory RNAs, were also found to produce a population of small RNAs, rather than a single defined product. This review aims to present the mechanisms contributing to the astonishing variability of miRNAs revealed by the new sequencing technologies. One important source is the careful balance of arm selection, producing sequentially different 5p- or 3p-miRNAs from the same pre-miRNA, thereby broadening the number of regulated target RNAs and the phenotypic response. In addition, the formation of 5', 3' and polymorphic isomiRs, with variable end and internal sequences also leads to a higher number of targeted sequences, and increases the regulatory output. These miRNA maturation processes, together with other known mechanisms such as RNA editing, further increase the potential outcome of this small RNA pathway. By discussing the subtle mechanisms behind the sequence diversity of miRNAs, this review intends to reveal this engaging aspect of the inherited “RNA world”, how it contributes to the almost infinite molecular variability among living organisms, and how this variability can be exploited to treat human diseases.

Keywords RNA interference · RNAi · MicroRNA · Arm selection · isomiR

Introduction

One of the fundamental ideas that revolutionized biological science and was also considered to lay down the bases of molecular biology was the famous “one gene—one enzyme” hypothesis formulated by George Beadle and Edward Tatum in the beginning of the 1940s (Beadle and Tatum 1941). They proposed that enzymes carry out the metabolic functions in the cells, and all enzymes are determined by unique DNA segments called genes. With the advancement of biochemistry and genetics, and after the formulation of the “central dogma” of molecular biology (Crick 1958), the

hypothesis was refined as the “one gene—one polypeptide” statement; yet, it still turned out to be a simplified version of genetic complexity. Soon it was revealed that at the RNA level, the “message” is often a combinatorial output of the DNA sequence of a particular gene. The discovery of splicing and alternative splicing provided the first evidence that several mRNA isoforms can be generated from a single gene, potentially coding for several protein species (Berget et al. 1977; Chow et al. 1977; Baralle and Giudice 2017; Shenasa and Hertel 2019). Another important discovery was the phenomenon of RNA editing, showing that the nucleotide sequence of the transcribed mRNA can be functionally modified, which also results in the alteration of the encoded polypeptide sequence (Benne et al. 1986; Powell et al. 1987). Since these original observations, follow-up investigations revealed several other RNA modification pathways, further supporting the view that gene activity indeed produces a complex pool of transcripts, rather than a single RNA with

✉ Tamás I. Orbán
orban.tamas@ttk.hu; orban@biomembrane.hu

¹ Institute of Enzymology, Research Centre for Natural Sciences, Eötvös Loránd Research Network, Magyar Tudósok Körútja 2, Budapest 1117, Hungary

PHD DISSZERTÁCIÓK BEMUTATÁSA ROVAT FELHIVÁSA

A Biokémia folyóirat szerkesztőbizottságában felmerült, hogy a bárki számára előben 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 tézisfüzet, 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

EMBERI BETEGSÉGEK ZEBRADÁNIÓ MODELLJEI

Annus Tamás

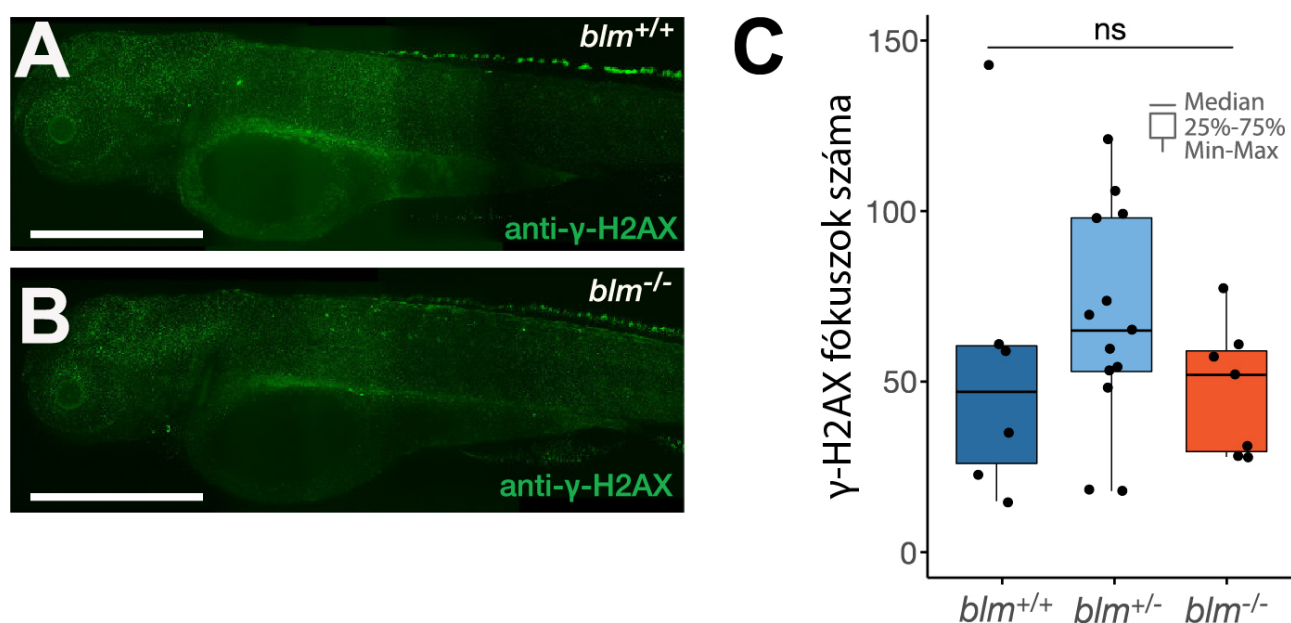
Eötvös Loránd Tudományegyetem, Természettudományi Kar,
Biológiai Intézet, Genetikai Tanszék

Biológia Doktori Iskola, Genetika Program

e-mail: tamas.annus@ttk.elte.hu

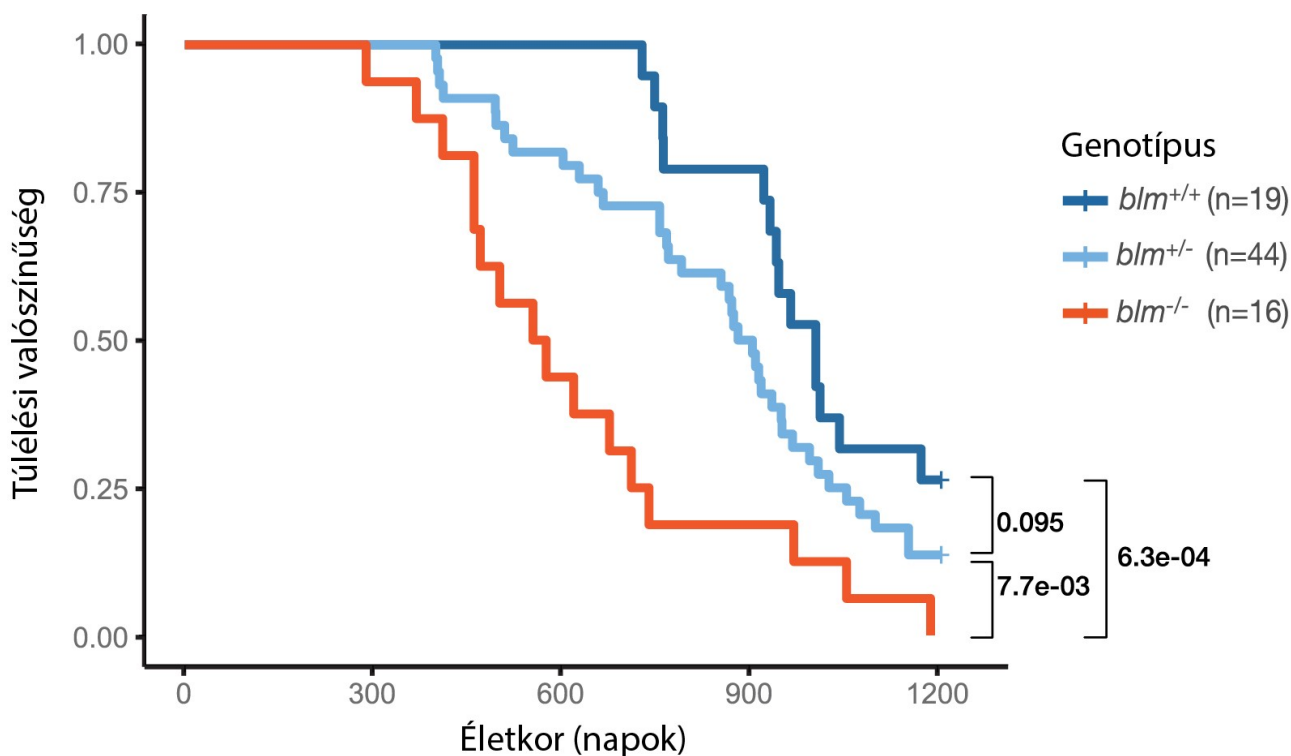
Témavezetők: Dr. Varga Máté és Dr. Kovács Mihály

A RecQ-helikázok nagyfokú evolúciós konzerváltságot mutató fehérjék, melyek fő funkciója a genom integritásának fenntartása [1]. A humán genom öt RecQ családbeli fehérjét kódoló gént tartalmaz: *RECQL1*, *BLM*, *WRN*, *RECQL4* és *RECQL5*. Betöltött szerepeik fontosságát mutatja, hogy a géncsalád három tagjához köthető recesszív autoszómális betegség: a *BLM*-hez és *WRN*-hez névadó szindrómáik, a Bloom- és Werner-szindróma, míg a *RECQL4*-hez három különböző tünetegyüttes, a Baller-Gerold, Rothmund-Thomson- és RAPADILINO-szindrómák. A Genetikai Tanszék Halgenetikai Kutatócsoportja és a Biokémiai Tanszék Motor Enzimológiai Kutatócsoportja kollaborációjában e betegségek modellezését tűzte ki célul, melyek közül én a Bloom-szindrómára koncentráltam. Ez egy ritka genetikai betegség, melynek tünetei között szerepel a kis termet, UV sugárzás hatására bekövetkező bőrelváltozások, termékenységi problémák és genominstabilitás, ami megnövekedett rákkockázathoz és azon keresztül korai halálhoz vezet [2].



1. ábra. Kezeletlen háromnapos zebrahal lárvák γH2AX immunjelölése. A) Vad típusú és B) *blm* homozigóta mutáns halak fenotípusai. C) A megfigyelhető fókuszok számában nem volt szignifikáns különbség a genotípusok között. (Skála: 500 μm) [3].

A zebraahal RecQ-helikázokkal kapcsolatos betegségek modellezésére különösen alkalmas szervezet, mivel az alapvető előnyeinek túl (pl. kis méret, magas fertilitás, evolúciós közelség, költséghatékony fenntarthatóság) mindegyik humán RecQ-génnek pontosan egy zebraahal ortológja van.

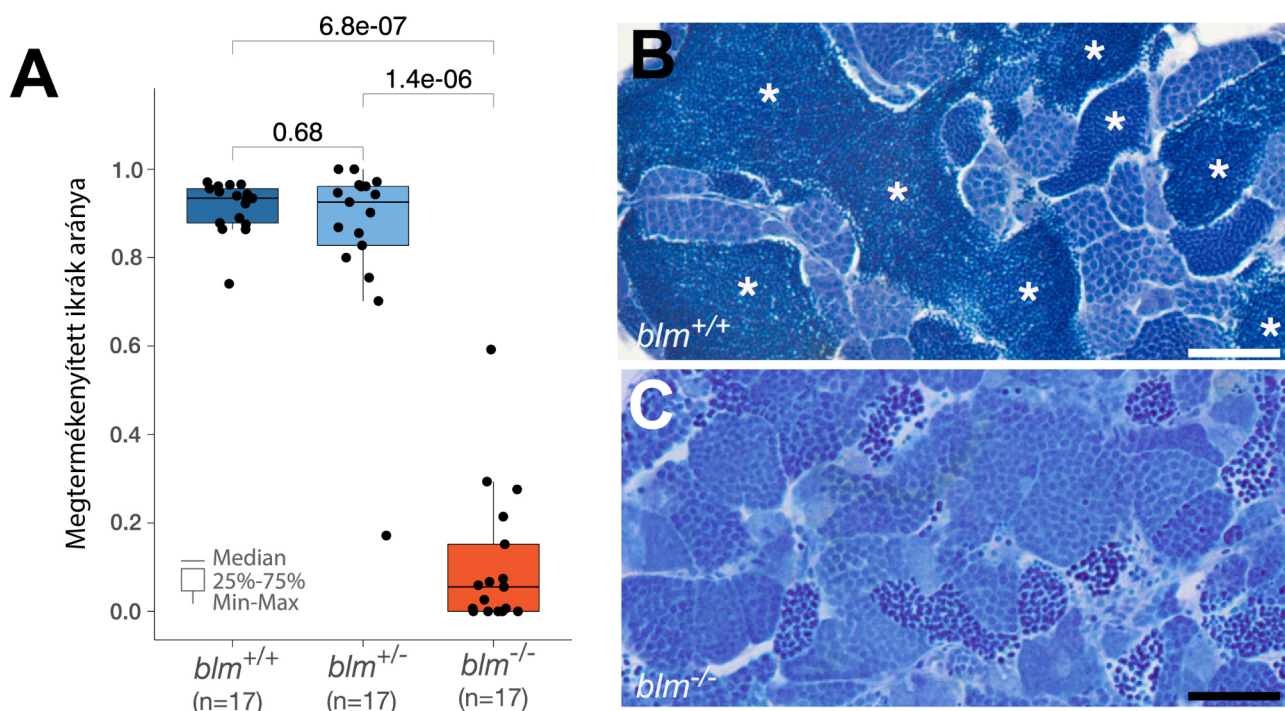


2. ábra. A különböző *blm* genotípusú halak túlélési valószínűségeinek időbeli változása. A homozigóta mutánsok szignifikánsan rövidebb ideig éltek a testvéreiknél [3].

Disszertációmban zebraadánió, más néven zebraahal (*Danio rerio*) segítségével végzett, humángenetikai és viselkedési betegségek modellezésével kapcsolatos kutatásaimat mutatom be.

CRISPR/Cas9-alapú genomszerkesztéssel létrehoztuk a zebraahal *blm* gén működésképtelen variánsát, majd ezt felhasználva tanulmányoztuk annak következményeit a halakban. Elsőként a mutáció kettősszalú DNS-törés javításának eredményességére gyakorolt hatását vizsgáltuk két- és háromnapos hallárvák segítségével. A γ H2AX kettősszalú DNS-törés marker hisztonvariáns immunjelölésével hasonlítottuk össze a megfigyelhető fókuszok számát a *blm* genotípusok között kezeletlen (1. ábra) és diepoxibután genotoxikus szerrel kezelt körülmények között. Meglepő módon egyik esetben sem volt kimutatható megnövekedett γ H2AX fókuszgyakoriság a mutánsokban. Ezt a konklúziót megerősítették diepoxibután- és gamma-sugárzás-kezelés után végzett morfológiai analízisek is. Mindezek alapján feltételezhetjük, hogy vagy anyai

faktorok, vagy egy hasonló funkciójú fehérje kompenzációs hatása állhat a háttérben.



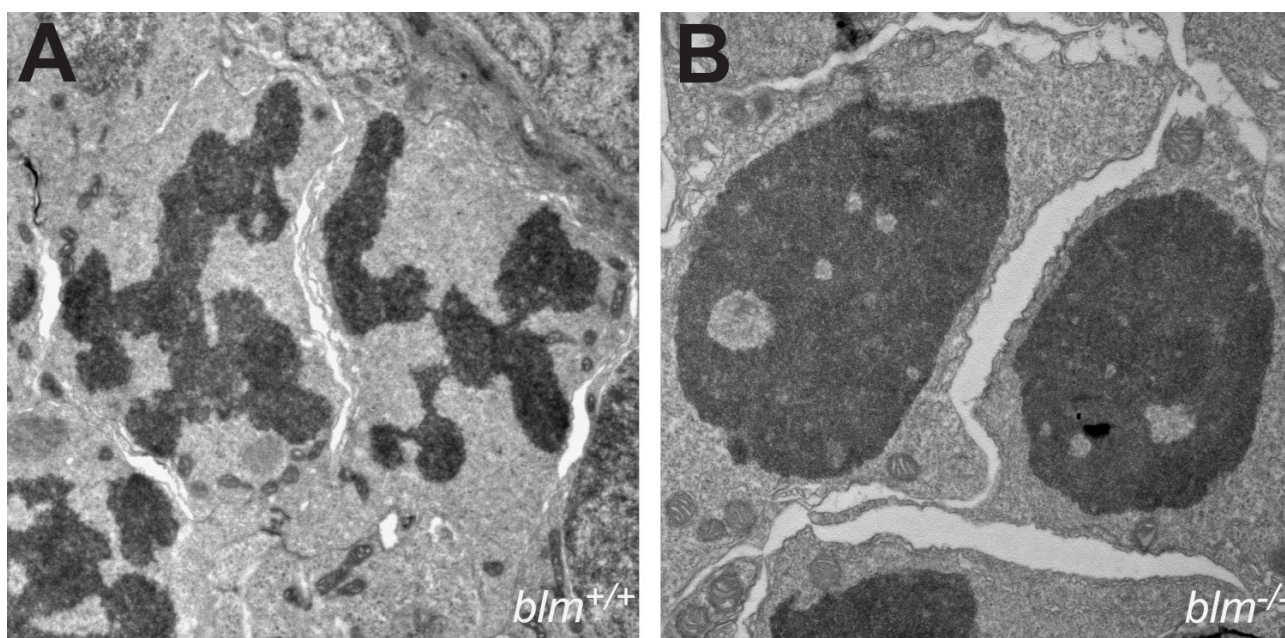
3. ábra. A blm homozigóta mutánsok termékenységi elváltozásai. A) Különböző blm genotípusú egyedek megtermékenyítési aránya. A blm homozigóta mutánsok szignifikánsan csökkent termékenysűek. **B)** Izolált herék toluidinkékkel festett metszetei alapján a spermatozoa klaszterek (csillagok) mérete és sűrűsége **C)** mutáns herékben elmarad a **B)** vad típusúakhoz képest. (Skála: 50 μ m) [3].

Noha a korai egyedfejlődés alatt nem figyeltünk meg rendellenességeket és tovább fejlődve a különböző blm genotípusú halak testhosszukban sem különböztek egymástól, a felnőtt egyedek vizsgálata rámutatott, hogy a modell a humán betegség fontos velejáróit reprodukálja. A blm homozigóta mutáns halak túlélési rátájában szignifikáns csökkenést tudtunk kimutatni, ami alapján a Blm-helikáz hiánya hosszú távon zebrahalban is negatív következményekkel jár (2. ábra).

Fertilitási vizsgálatok segítségével arra is fény derült, hogy a hím egyedek csökkent termékenysűek, aminek háttérében csökkent spermatozoa termelési képesség áll (3. ábra).

A szubfertilitást azonban csak hím halak esetén tudtuk kimutatni, mivel érdekes módon az összes homozigóta mutáns hímmé fejlődött. A zebrahalak későbbi ivaruktól függetlenül a korai ontogenezis alatt egy juvenilis ovárium nevű szervvel rendelkeznek, mely vagy érett ováriummá fejlődik, vagy testtiszé

differentiálódik. A kialakuló ivar és a szervkezdeményben található primordiális csírasejtek száma szorosan kapcsolódnak (hímekké fejlődő egyedekben kevesebb, nőstényekké fejlődőkben pedig több van utóbbiakból) [4], ezért mutánsainkat egy transzgenikus törzsbe kereszteztük, melyben a csíravonal sejtjei egy zöld fluoreszcens fehérje (EGFP) segítségével vannak jelölve. Megfigyeléseink alapján a *blm* homozigóta mutánsokban következetesen kevés EGFP pozitív sejt volt megfigyelhető, tehát a *blm* mutáció valamilyen módon gátolhatta a primordiális csírasejtek számának feldúsulását olyan egyedekben is, melyek vad háttérben adott körülmények között nősténnyé differentiálódtak volna. Első feltételezéseink szerint ez apoptikus sejthalál kiváltásával történt, azonban az apoptózist meggátló, *tp53*^{-/-} mutáns háttérben sem fordultak elő nőstények a *blm* homozigóták között.



4. ábra. Elektronmikroszkópiás felvételek spermatocitákról. A) A vad típusú spermatociták kromatin struktúrája élesen elkülönülő kromoszómákat mutat, míg **B)** a mutáns spermatociták kromatinja erősen kondenzált szerkezetű, ami a kromoszómák szétválásában bekövetkező zavarokra utalhat [3].

Végül az abnormális testiszműködés kiváltó okát kerestük kifejlett herék elektronmikroszkópiájával (4. ábra) és immunjelölésével. Az analízis során a kromatin struktúráján és a szinaptonémás komplex egy elemének mintázatán keresztül vizsgáltuk a meiózisban esetlegesen bekövetkező hibákat, ami alapján kimutattuk, hogy a sejtosztódás a homozigóta mutánsok spermatocitáiban elakad, továbbá, hogy a mutáns testiszek megemelkedett kaspázműködést mutatnak, ami apoptózis lezajlására utal.

Összegzésként elmondhatjuk, hogy az élethosszban és termékenységben bekövetkező változások alapján egy értékes modellel bővítettük a Bloom szindrómával kapcsolatos kutatások eszköztárát.

A doktori dolgozat alapjául szolgáló publikációk

Annus, T., Müller, D., Jezsó, B., Ullaga, G., Németh, B., Harami, G.M., Orbán, L., Kovács, M., Varga, M. (2022) Bloom syndrome helicase contributes to germ line development and longevity in zebrafish. *Cell Death & Disease*, **13(4)**: 363.

Varga, Z.K., Pejtsik, D., Biró, L., Zsigmond, Á., Varga, M., Tóth, B., Salamon, V., Annus, T., Mikics, É., Aliczki, M. (2020) Conserved serotonergic background of experience-dependent behavioral responsiveness in zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Neuroscience*, **40(23)**: 4551-4564.

Irodalomjegyzék

- [1] Croteau, D.L., Popuri, V., Opresko, P.L., Bohr, V.A. (2014) Human RecQ helicases in DNA repair, recombination, and replication. *Annual review of biochemistry*, **83**: 519-552.
- [2] Cunliffe, C., Bassetti, J.A., Ellis, N.A. (2017) Bloom's syndrome: clinical spectrum, molecular pathogenesis, and cancer predisposition. *Molecular syndromology*, **8(1)**: 4-23.
- [3] Annus, T., Müller, D., Jezsó, B., Ullaga, G., Németh, B., Harami, G.M., Orbán, L., Kovács, M., Varga, M. (2022) Bloom syndrome helicase contributes to germ line development and longevity in zebrafish. *Cell Death & Disease*, **13 (4)**: 363.
- [4] Tzung, K.-W., Goto, R., Saju, J.M., Sreenivasan, R., Saito, T., Arai, K., Yamaha, E., Hossain, M.S., Calvert, M.E., Orbán, L. (2015) Early depletion of primordial germ cells in zebrafish promotes testis formation. *Stem cell reports*, **4(1)**: 61-73.

A RILUZOL HATÁSMECHANIZMUSÁNAK VIZSGÁLATA FOTOAKTIVÁLHATÓ RILUZOL-ANALÓG SEGÍTSÉGÉVEL

Földi Mátyás Csaba
Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológia Doktori Iskola,
Szerkezeti Biokémia Program
e-mail: foldi.matyas81@gmail.com

Témavezető: Dr. Mike Árpád

A feszültségfüggő nátriumcsatorna szerepe és működése

A feszültségfüggő nátriumcsatornák teszik lehetővé az úgynevezett ingerelhető sejtekben (vázizom-, szívizom-, idegsejtek) az akciós potenciálok kiváltását. Működésük elengedhetetlen a szervezet fiziológiás működéséhez, meghibásodásuk neurológiai, szív- és izombetegségekhez vezethet. A betegségeket kiváltó ok lehet szerzett vagy genetikai (channelopathia) [1]. Mindkét esetben a beteg sejt működése úgy módosul, hogy túlingerelhetővé válik, a normálisnál negatívabb membránpotenciálon is tüzelni kezdenek a sejtek, vagy felgyorsult tüzelési mintázatot mutatnak. A hiperexcitabilitás (túlzott ingerelhetőség) az alapja egyes epilepszia típusoknak, izomgörcsöknek, fájdalom szindrómáknak, szívritmuszavaroknak, de számos neurodegeneratív és pszichiátriai betegségben is szerepet játszik. Amennyiben meggátoljuk a beteg sejtek működését, megelőzhetjük a betegség tüneteinek megjelenését, viszont fontos, hogy a beavatkozás ne érintse az egészséges sejteket, mert azok gátlása izombénulást, szívleállást, ill. az idegi működés leállását vonná maga után. Ráadásul a különböző típusú (szív, vázizom, központi-, ill. perifériás idegrendszeri) nátriumcsatorna altípusok gyógyszerkötőhelye meglehetősen konzervált, ezért más szervrendszerekben is számolhatunk káros mellékhatásokkal.

A feszültségfüggő nátriumcsatorna válaszol a sejtmembránt érintő potenciálváltozásokra. Hirtelen bekövetkező depolarizáció hatására a csatornák kinyílnak (nyitott állapot), létrejön az ionáram, majd néhány milliszekundum után kialakul az ionvezetésre képtelen inaktivált állapot, mely esszenciális a túlingerelhetőség megelőzésében, illetve a tovaterjedő akcióspotenciálok kialakításában, vagyis a nátriumcsatornák normál aktivitásában. Ebből hiperpolarizáció hatására visszatérnek a csatornák nyugalmi állapotba, tehát újra „nyitásképessé” válnak.

A jelenleg használatban lévő nátriumcsatorna-gátlók úgy képesek különbséget tenni a beteg és egészséges csatornák között, hogy funkcionális szelektivitást mutatnak. Ez azt jelenti, hogy erősebben gátolják például a depolarizáltabb

membránpotenciállal rendelkező sejteket, vagy a nagyobb frekvenciával tüzelő sejteket. Ezt úgy érik el, hogy állapotfüggést mutatnak, vagyis az inaktivált állapotú csatornákhöz nagyobb affinitással kötődnek. Tehát azon csatornák esetében, melyek gyorsabban tüzelnek (tehát több időt töltenek inaktivált állapotban), nagyobb hatást fejtenek ki. A hatás általában az inaktivált állapotból való visszatérés késleltetését, illetve adott feszültségen a nyugalmi és inaktivált állapotú csatornák arányának megváltoztatását jelenti, valamint amplitúdó csökkenés is megfigyelhető. Periodikusan ismétlődő depolarizációk és hiperpolarizációk esetén, pl. egymást követő akciós potenciálok során a gyógyszerek dinamikusan asszociálnak és disszociálnak a csatorna konformációjától függően. A funkcionális szelektivitás pontos mechanizmusában jelentős különbség van az egyes nátriumcsatorna-gátló anyagok között, ez teszi például lehetővé, hogy különböző típusú szív-aritmiákat különböző típusú nátriumcsatorna-gátló gyógyszerekkel kezeljenek.

A riluzol különlegessége

A riluzol egy benzotiazol-típusú vegyület, mely leginkább nátriumcsatorna-gátlóként ismert. Egyedülállóan hatékony idegsérülések kezelésére, mely esetben hatását úgy fejt ki, hogy megakadályozza a nátriumionok beáramlását, ezáltal a membránpotenciál eltolódását és az ennek hatására bekövetkező kalciumion beáramlást, ami a sejt elhalásához vezetne [2]. Kivételesen erős preferenciával rendelkezik a nátriumcsatornák inaktivált állapota iránt, inaktivált állapothoz való affinitását $0,2-0,3 \mu\text{M}$ körülinek találták. Mechanizmusát vizsgálva azonban azt tapasztaltuk, hogy ez a nagy affinitásra utaló erős gátló hatás képes meglepően gyorsan megszűnni: egy-egy depolarizáció (akciós potenciál) után csak néhány milliszekundumig észleltük a rendkívül hatékony gátlást, a hiperpolarizáció során a gátlás meglepő gyorsasággal (10-20 ms alatt) megszűnt [3]. A hagyományos magyarázat szerint a nagy affinitás feltételezi a lassú disszociációt, nem értettük tehát hogyan szűnhet meg a gátlás ilyen gyorsan.

Nem-blokkoló moduláció

A nátriumcsatorna-gátlók (pl. helyi érzéstelenítők, antiaritmikumok, antiepileptikumok) kötőhelye a csatorna pórusának belsejében van. A gátlószer kötése ezért – sztérikusan vagy elektrosztatikusan – akadályozza az ionok áramlását. Ezt a gátlási mechanizmust nevezzük csatorna blokknak. Elméleti magyarázatként felmerült bennünk, lehetséges-e, hogy egy nátriumcsatorna-gátló molekula nem blokkolja az ionáramot. A riluzol rendkívül kis térfogatú, és a

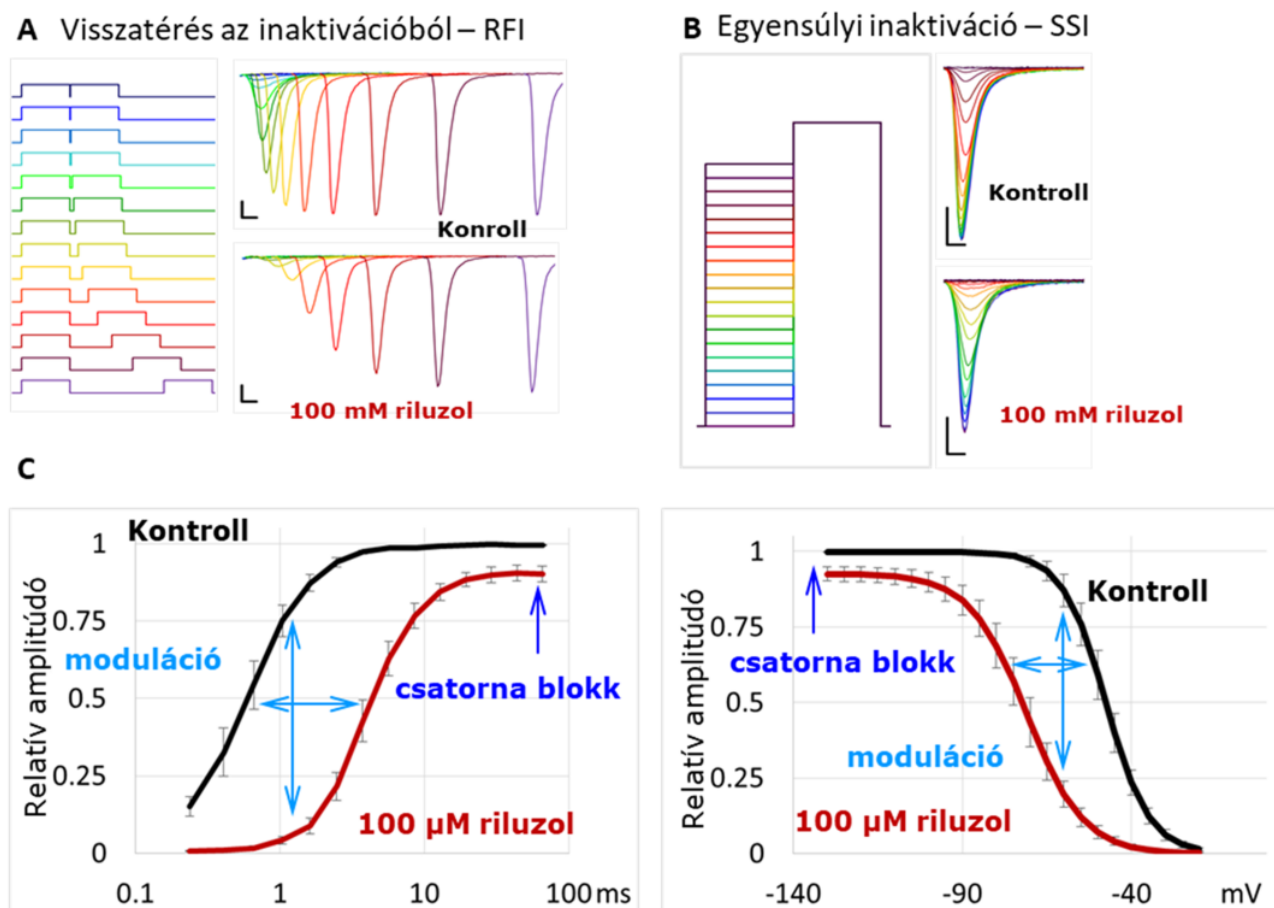
legtöbb klasszikus nátriumcsatorna-gátlóval ellentétben neutrális molekula, vagyis nem kizárt, hogy tényleg nem akadályozza az ionáramot. A gátlás mechanizmusa ebben az esetben „moduláció”, ami azt jelenti, hogy nemcsak a csatorna konformációs állapota hat a ligandum kötésére, hanem a ligandum kötése is visszahat a konformációs átalakulások energetikájára, dinamikájára. Lényegében arról van szó, hogy az inaktivált állapothoz kötött riluzol stabilizálja az inaktivált állapotot. Ha a riluzol nagy affinitással kötne a csatornához, de magát a vezetést nem gátolná, csak a konformációs átalakulások dinamikáját módosítaná, az magyarázná a riluzol sajátos viselkedését, és nem mellesleg ez a hatásmechanizmus, amelyet „nem-blokkoló moduláció”-nak nevezünk el, terápiás szempontból várhatóan előnyösebb, mivel ha pusztán a konformációs átalakulások dinamikáját módosítja, akkor sokkal hatékonyabban tud különbséget tenni a patológiás és fiziológias működésű sejtek között.

Doktori munkámban kísérletesen vizsgáltam és igazoltam ezt a hipotézist: a riluzol nem disszociál a nyugalmi állapot kialakulásakor, hanem kötve marad a csatornához, nyitott állapotban azonban nem gátolja az ionáramot, csak annyi hatása van, hogy az inaktivált állapotot energetikailag stabilabbá teszi. Hogy kizárhassuk az asszociáció/disszociáció folyamatát, egy fotoaktiválható riluzol-analógot, az azido-riluzolt használtuk. Ez a molekula UV-fény-besugárzás hatására kovalens kötést létesít a környezetében lévő alkalmas oldallánccal.

Létrehoztunk egy olyan HEK293 immortalizált sejt vonalat, mely patkány NaV1.4 típusú csatornákat fejez ki. A csatornák működését egy elektrofiziológiai, úgynevezett „planar patch” technikával vizsgáltuk a Nanion™ cég által forgalmazott Port-a-Patch készüléken.

Az irodalomban általánosan a következőkben bemutatott két protokollal vizsgálják a csatornák konformációváltásainak kinetikáját és energetikáját, illetve a gyógyszerek ezekre gyakorolt hatását. Az első az inaktivációból való visszatérés (Recovery From Inactivation, RFI). Ennek lényege, hogy két depolarizációs pulzus között egyre hosszabbodó hiperpolarizációs időket hagyva vizsgáljuk, hogy milyen gyorsan térnek vissza a csatornák az inaktivált állapotból (1A. ábra). A másik protokoll az egyensúlyi inaktiváció (Steady-State Inactivation, SSI) az inaktivált és nyugalmi állapotú csatornák arányának feszültség függését vizsgálja. Ezt úgy érjük el, hogy minden vizsgálati depolarizáció előtt egy egyre pozitívabb, úgynevezett pre-depolarizációs pulzust alkalmazunk (1B. ábra). Mindkét esetben kétféle hatást figyelhetünk meg, az

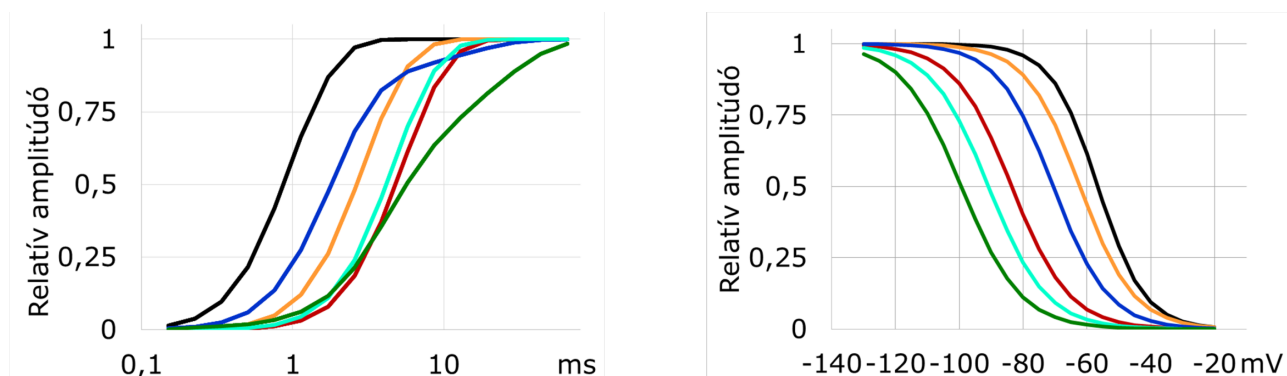
egyik egy mindentől független amplitúdó csökkenés, melyet valószínűleg a csatornablokk okoz. A másik a moduláció, mely a gyógyszer hatására bekövetkező változást mutatja: az RFI protokoll esetében lassul a csatornák inaktivációból való visszatérése, az SSI protokoll esetén pedig negatív irányba tolódik a nyugalmi inaktívált egyensúly (1C. ábra). Mindkettő azt tükrözi, hogy a gátlószer jelenlétében az inaktívált állapot energetikailag stabilabbá válik.



1. ábra. A használt mérési protokollok: **A)** RFI protokoll – két depolarizáció között folyamatosan hosszabbodó hiperpolarizációval. **B)** SSI protokoll – egyre pozitívabb pre-depolarizációs feszültségek a depolarizációs pulzus előtt. **C bal oldal)** RFI esetén, ha a kontrollhoz normalizált relatív amplitúdót ábrázoljuk a hiperpolarizáció idejének függvényében, kétféle gyógyszerhatást tudunk megkülönböztetni, az amplitúdó csökkenés által jelzett blokkot, illetve a görbe jobbra tolódása által jelzett modulációt. **C jobb oldal)** A kontrollhoz normalizált relatív amplitúdót az egyre pozitívabb pre-depolarizációs feszültségek függvényében ábrázoljuk, akkor a gyógyszer hatására a negatívabb feszültségek felé tolódik el az egyensúly. (fekete: kontroll görbe, piros: 100 μ M riluzol).

A vizsgálatok alapján azt tapasztaltuk, hogy teljes kötőhely-telítettség esetén a riluzol jelentősen lassítja az inaktivációból való visszatérést, illetve a csatornák nyugalmi és inaktívált egyensúlyát a negatívabb feszültségek felé tolja el, és kis amplitúdó-csökkenést okoz. Ehhez képest az azido-riluzol – bár amplitúdó-csökkenés szempontjából a riluzolhoz hasonló – kinetikai szempontból egy

nagyságrenddel gyengébb hatást mutatott. Abban az esetben, ha a kezelések alatt folyamatos UV-besugárzást alkalmaztunk, az azido-riluzol hatása a riluzol szintjére erősödött, a nyugalmi/inaktivált egyensúly eltolása szempontjából még erősebbé is vált, mely a kovalens kötésnek köszönhetően az azido-riluzol kimosása után is, a kísérlet teljes időtartamán keresztül változatlanul megmaradt. A legfontosabb felfedezés, hogy a gyógyszert kovalensen kötött csatornák is képesek voltak ionok vezetésére, tehát létezik a feltételezett nem-blokkoló moduláció.



2. ábra. Riluzol és azido-riluzol modulációs hatása az RFI (bal) és SSI (jobb) elektrofiziológiai protokoll vizsgálatokor. Minden kísérlet esetében a saját maximális áramához maximalizálva (fekete: kontroll, sárga: 10 μ M riluzol, kék: 100 μ M azido-riluzol, piros: 100 μ M riluzol, zöld: 100 μ M azido-riluzol UV kezelés közben, világoskék: 100 μ M azido-riluzol UV-s kezelés, majd az azido-riluzol kimosása után).

További kísérleteinkben igazolnunk kellett, hogy az UV-besugárzás hatására létrejövő kovalens kötés valóban konformációfüggő, és valóban specifikus. A konformációfüggést úgy igazoltuk, hogy az UV-besugárzást szinkronizáltuk az elektrofiziológiai feszültséglépésekkel. Így szabályozni tudtuk, hogy az azido-riluzol kötődésekor a csatorna milyen konformációban van. Igazoltuk, hogy a hatékony modulációt létrehozó nagy affinitású kötés csak az inaktivált állapotban jön létre. A kötés specificitásának igazolására létrehoztunk egy mutáns nátriumcsatornát, ahol a helyi érzéstelenítő kötőhely legfontosabb aminosavát, az 1579-es pozícióban lévő fenilalanint alaninra cseréltük. A mutáns csatornákon megszűnt a nagy affinitású kötés, és a maradék, kisebb affinitású kötés nem okozott modulációt. Igazoltuk tehát, hogy az azido-riluzollal inaktivált csatorna konformáció-preferenciával rendelkezik és valóban a helyi érzéstelenítő kötőhelyet használja, viszont van egy (vagy több) másodlagos, kis affinitású kötőhely, melyek esetében a kötés csak amplitúdó gátlást okoz.

Konklúzió

Összefoglalásként megállapíthatjuk, hogy munkám során alkalmaztunk egy

eddig senki által nem használt módszert, a konformációs szelektív fotoaffinitás-jelöléssel összekötött elektrofiziológiát. Ennek segítségével leírtunk egy eddig nem bizonyított gyógyszer-hatásmechanizmust, a nem-blokkoló modulációt. Ha tisztázzuk, hogy milyen kémiai tulajdonságok okozzák a megfigyelt kinetikai tulajdonságokat és ezáltal tehetnek egy gátlószert nem-blokkoló modulátorrá, akkor képesek lehetünk hatékonyabb gyógyszereket fejleszteni. Az eddig szerzett tudásunk alapján további munkánkban arra törekszünk, hogy a nátrium-csatorna-gátlókról minél alaposabb kinetikai jellemzést tudjunk adni. Ezt nagy áteresztőképességű automata elektrofiziológiás mérésekkel végezzük [4]. A riluzolból kiindulva azt feltételezzük, hogy a szükséges tulajdonságok között szerepel az apró méret, az aromasság és az, hogy a molekula lipofil és neutrális legyen.

A doktori dolgozat alapjául szolgáló publikációk

Földi, M. C., Pesti, K., Zboray, K., Toth, A. V., Hegedűs, T., Málnási-Csizmadia, A., Lukacs, P., Mike, A. (2021) The mechanism of non-blocking inhibition of sodium channels revealed by conformation-selective photolabeling. *British Journal of Pharmacology*, **178(5)**: 1200–1217.

Lukacs, P., Földi, M. C., Valánszki, L., Casanova, E., Biri-Kovács, B., Nyitray, L., Málnási-Csizmadia, A., Mike, A. (2018). Non-blocking modulation contributes to sodium channel inhibition by a covalently attached photoreactive riluzole analog. *Scientific Reports*, **8(1)**: 1–11.

Irodalomjegyzék

- [1] Catterall, W.A., Kalume, F., Oakley, J.C. (2010) Na V 1.1 channels and epilepsy. *J Physiol*, **588(11)**: 1849–1859.
- [2] Grossman, R.G., Fehlings, M.G., Frankowski, R.F., Bureau, K.D., Chow, D.S., Tator, C., Teng, A., Toups, E.G., Harrop, J.S., Aarabi, B., Shaffrey, C.I., Johnson, M.M., Harkema, S.J., Boakye, M., Guest, J.D., Wilson, J.R. (2014) A Prospective, Multicenter, Phase I Matched-Comparison Group Trial of Safety, Pharmacokinetics, and Preliminary Efficacy of Riluzole in Patients with Traumatic Spinal Cord Injury. *J Neurotrauma*, **31(3)**: 239–255.
- [3] Lenkey, N., Karoly, R., Lukacs, P., Vizi, E.S., Sunesen, M., Fodor, L., Mike, A. (2010) Classification of drugs based on properties of sodium channel inhibition: A comparative automated patch-clamp study. *PLoS One*, **5(12)**: e.0015568.
- [4] Pesti, K., Földi, M.C., Zboray, K., Toth, A.V., Lukacs, P., Mike, A. (2021) Characterization of Compound-Specific, Concentration-Independent

Biophysical Properties of Sodium Channel Inhibitor Mechanism of Action Using Automated Patch-Clamp Electrophysiology. *Front Pharmacol*, **12**: 738460.

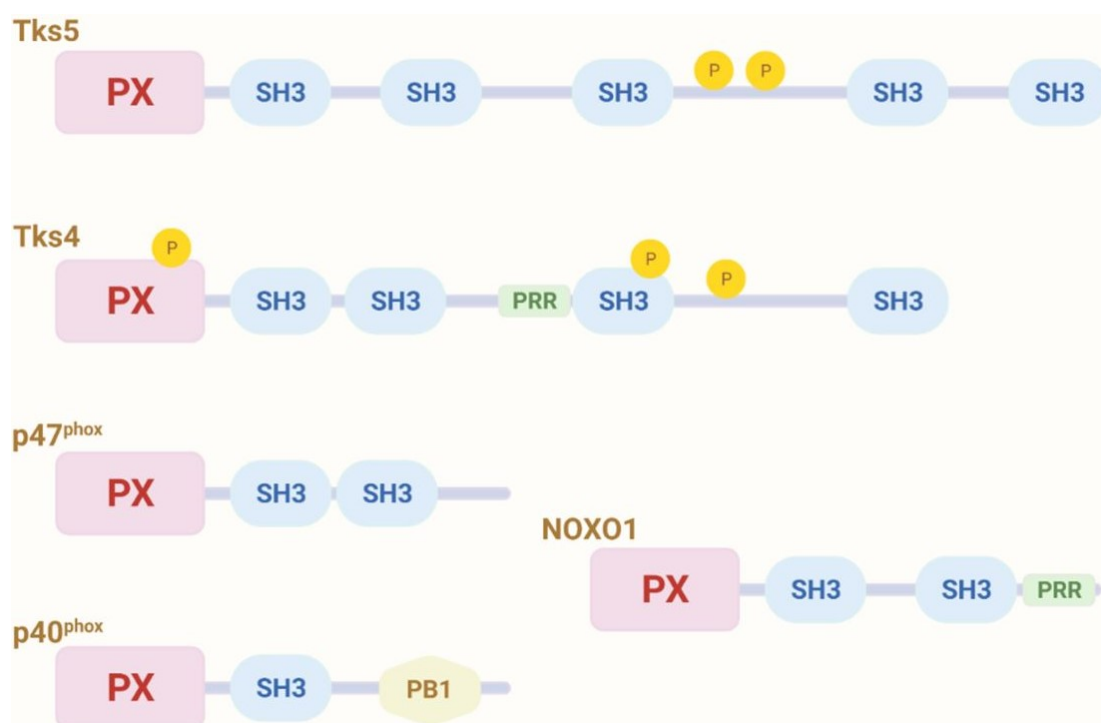
A TKS4 ÁLLVÁNYFEHÉRJE SZEREPE AZ EPITHELIÁLIS-MEZENCHIMÁLIS ÁTMENETBEN ÉS AZ ADIPOGÉN DIFFERENCIÁCIÓBAN

Szeder Bálint

*ELKH, Természettudományi Kutatóközpont, Enzimológiai Intézet,
Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológia Doktori Iskola, Szerkezeti
Biokémia Program*
e-mail: szederbalint@gmail.com

Témavezető: Dr. Buday László

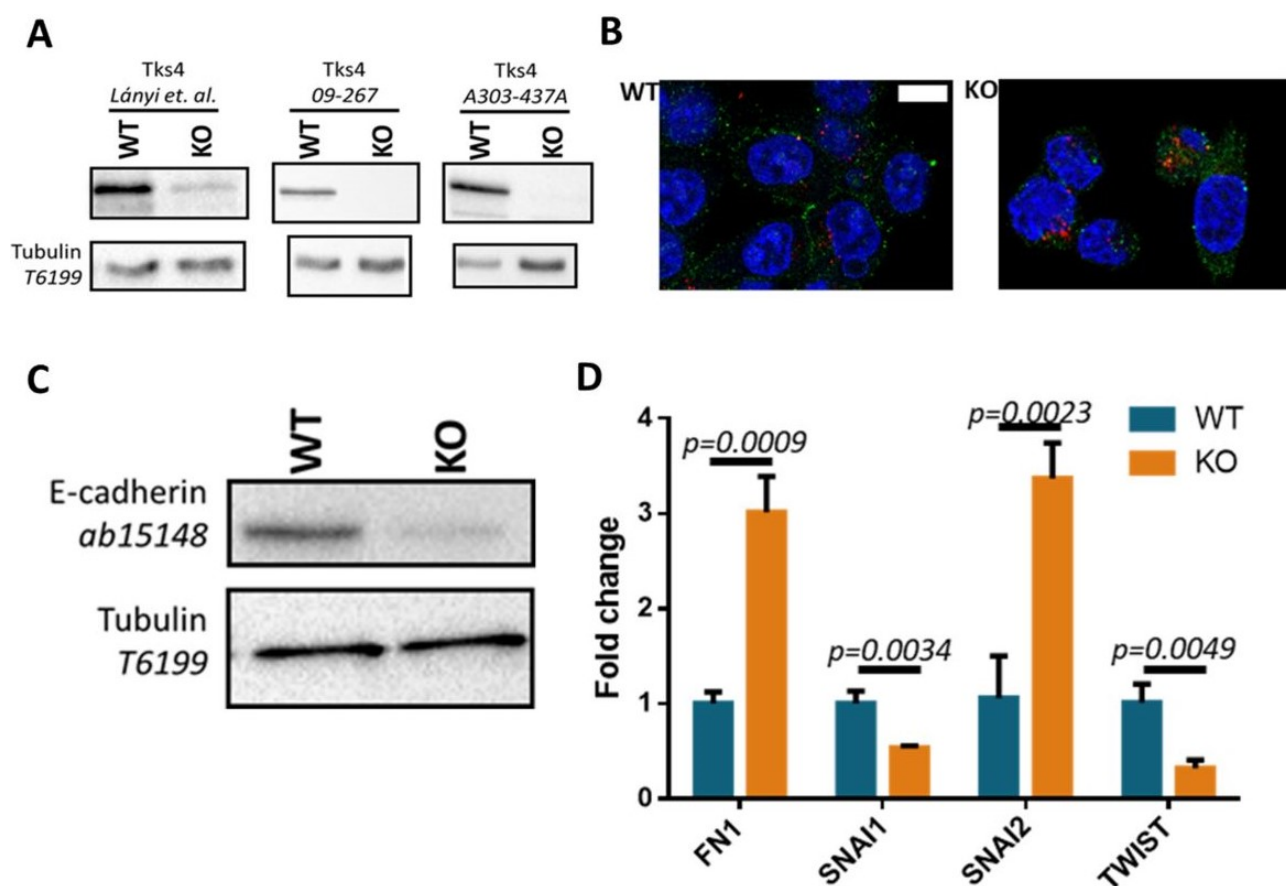
A Tks4 fehérje a Tks állványfehérje család tagja. Állványfehérjéről általánosságban elmondható, hogy nem rendelkeznek inherens enzimaktivitással. Funkciójukat jelátviteli útvonalak résztvevőinek egymás fizikai közelségében tartásával töltik be [1]. Felépítését tekintve a Tks4 rendelkezik egy N-terminális PX doménnel, valamint négy darab SH3 doménnel. Az SH3 domének fehérje-fehérje kölcsönhatásokat létesítenek prolingazdag régiók kötésével, illetve intramolekuláris kölcsönhatásokon keresztül a Tks4 konformációs szabályozásában vesznek részt [2] (1. ábra).



1. ábra. A Tks állványfehérje család tagjai. P - foszforilációs pontok, foszforiláció az Src kináz által; PRR – prolin gazdag régiók, kötés SH3 domének által.

A Tks4 az EGFR jelátviteli pálya ismert szereplője, EGF-függő módon foszforilálódik az Src kináz által. Ezenkívül korai résztvevői podoszómák és invadopódiumok képzésének.

Tks4 hiányában egy egyedi tünetegyüttes, az ún. Frank ter-Haar szindróma alakul ki. Ez egy autoszómális recesszíven öröklődő betegség súlyos tünetekkel. Az érintett gyerekek csontrendszeri elváltozásokat mutatnak, valamint megalocornea, glaukóma, illetve keringési zavarok is fellépnek [3]. Az, hogy a fehérje hiánya milyen mechanizmussal okozza a fent leírt elváltozásokat, egyelőre nem ismert.



2. ábra A Tks4-knock-out (Tks4-KO) sejtek karakterizálása. A) A Tks4 fehérje szintjének vizsgálata három különböző ellenanyaggal. A fehérje hiányzik Tks4-KO sejtekből. **B)** Az E-cadherin epithél marker (zöld) jele diffúz és kolokalizál savas lizoszómák (piros) jelével. Sejtmag, DAPI (kék), mérték: 20 mikrométer. **C)** Az E-cadherin fehérje szintje csökkent a Tks4-KO sejtekben. **D)** Az EMT transzkripciós faktorok közül a KO sejtekben megemelkedett a Snail2 (SNAI2) mRNS szintje, illetve megemelkedett a mezenchimális marker fibronectin is.

Ahhoz, hogy megértsük hogyan képes egy állványfehérje hiánya ilyen szerteágazó szisztémás zavart okozni, célunk volt létrehozni a Tks4-hiányos

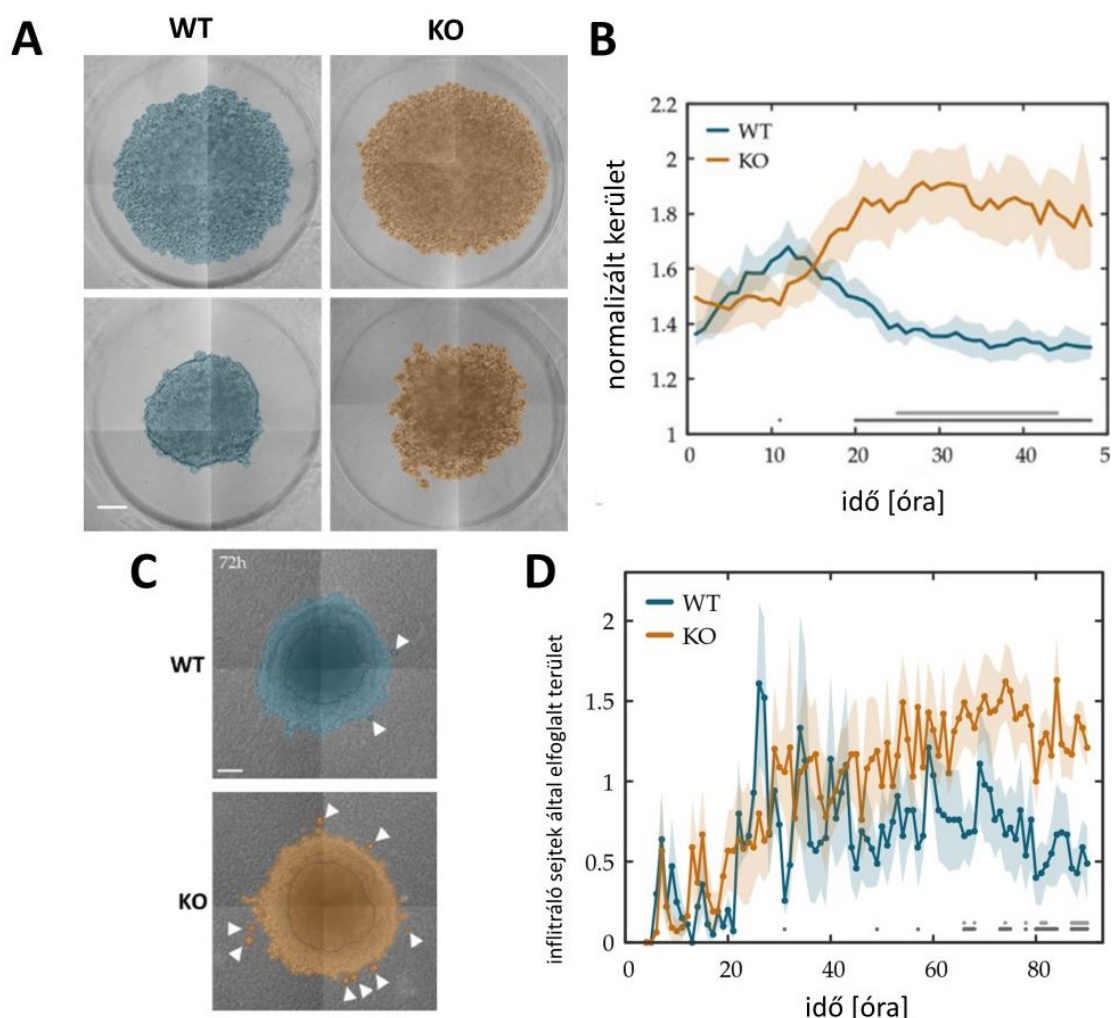
állapotot egy humán genetikai rendszerben. Ezt a CRISPR/Cas9 technikával hajtottuk végre HCT116 humán kolorektális karcinóma sejtekben. A génmódosítás sikeres volt, több ellenanyag használatával visszaigazoltuk a Tks4 fehérje hiányát a Tks4-knock-out (Tks4-KO) sejtekben (2A. ábra). Ez a sejtvonal epiteliális eredetű. Első vizsgálataink során megfigyeltük, hogy a Tks4 génhiányos sejtek epiteliális-mezenchimális átalakulásra (EMT) utaló morfológiai változásokat mutatnak. A Tks4-KO sejtekben az E-cadherin jel kolokalizál savas lizoszómákkal (2B. ábra). Ezt sikerült visszaigazolni western-blot technikával is (2C. ábra). Következő lépésként megvizsgáltuk az EMT-hez köthető transzkripciós faktorok Snail1/2, valamint Twist mRNS szintjeit, illetve a mezenchimális markerfehérje, fibronectin mRNS szintjét. Eredményeink azt mutatták, hogy emelkedett az EMT transzkripciós faktor, Snail2 és a mezenchimális marker, fibronectin szintje (2D. ábra).

A fentiek mellett a Tks4-KO sejtek kevésbé képesek felületre történő letapadásra. Kétdimenziós tenyészetekben a Tks4-KO sejtek gyorsabban és távolabbra képesek vándorolni, valamint alacsonyabb számban létesítenek illetve tartanak fenn sejt-sejt kapcsolatot egymással. Háromdimenziós kultúrába vonáshoz első lépésként ún. szferoidokat hoztunk létre mind vad típusú, mind Tks4-KO sejtekből. A szferoid képzés során észrevettük, hogy a Tks4-KO szferoidok szélei lazán kapcsolódó sejtekből állnak, ezzel szemben a vad típusúak kifejezett szegéllyel rendelkeznek. Ezt számszerűsítettük úgy, hogy lemértük a szferoidok kerületét és ezt elosztottuk egy azonos sugarú kör kerületével. Az így kapott ún. normalizált kerületeket összevetve azt tapasztaltuk, hogy a Tks4-KO szferoidok hosszabb idő elteltével is megőrzik laza szegélyüket és alakjukban szignifikánsan különböznek a vad típusú szferoidoktól (3A,B. ábra). Kollagén mátrixba történő ültetésük után a Tks4-KO szferoidokból több sejt volt képes kiszabadulni és távolabbra vándorolni (3C,D. ábra). A Tks4 visszajuttatása a KO sejtekbe közel visszaállította a SNAIL2 és fibronectin szinteket a vad típusban mértékhez.

Vad típusú és Tks4-KO egerekből izolált zsírszövetekben a SNAIL1, SNAIL2, TWIST és fibronectin mRNS szintje is hasonlóan változott a Tks4-KO sejtekben tapasztaltakhoz. Az EMT transzkripciós faktorok emelkedést mutattak legalább egy mintában (4A. ábra). Anatómiai vizsgálatok rávilágítottak arra, hogy a Tks4-KO egerek testtömegre vonatkoztatva kevesebb zsírszövettel rendelkeznek. A különböző barna- és fehér-zsír depók (sWAT, gWAT, iBAT) a Tks4-KO egér esetében nem mutattak szerkezeti eltérést, bézs zsírszöveti jellemzők mellett

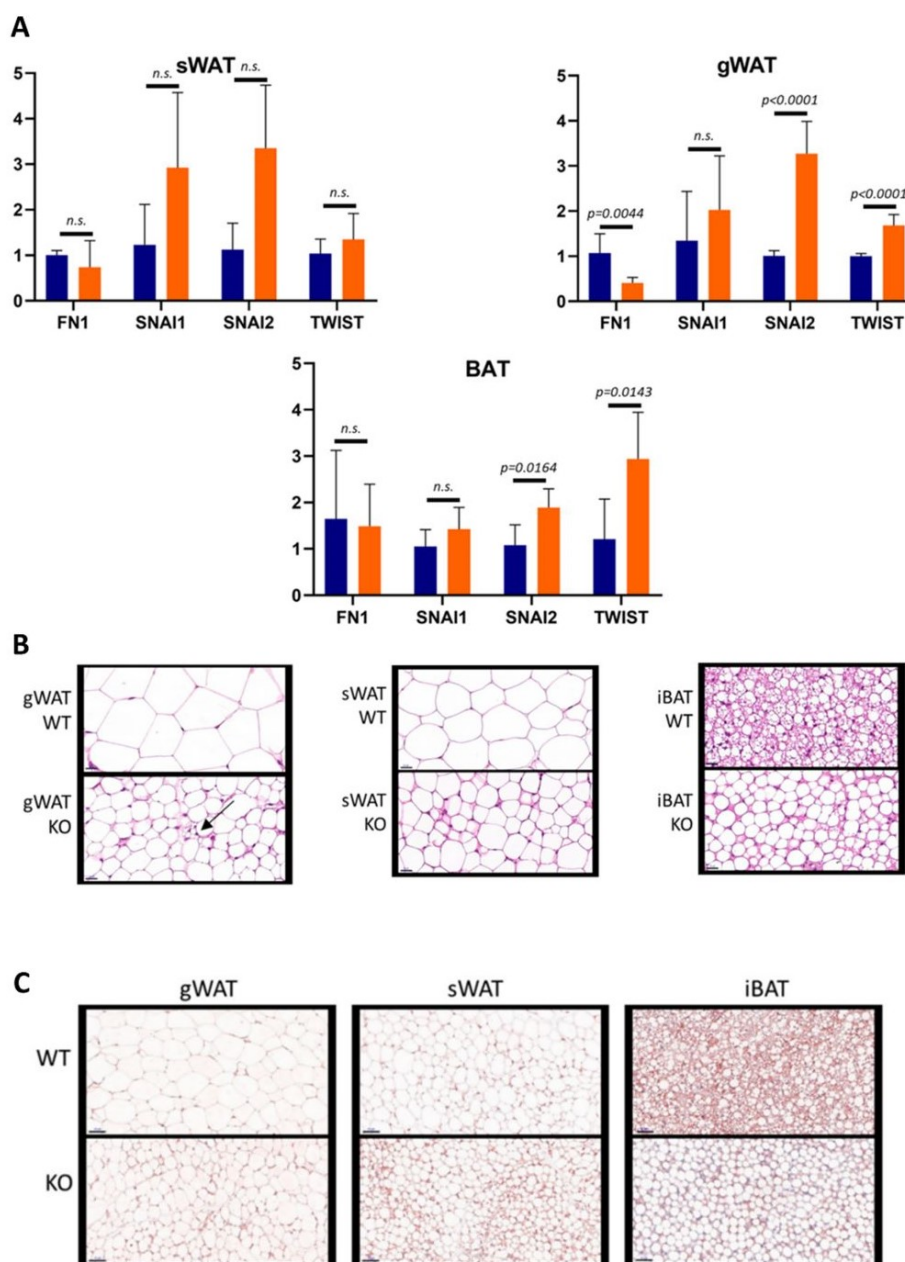
egységesek megjelenésükben (4B. ábra).

Ezek a különbségek nem eltérő *de novo* differenciációs különbségekből fakadnak, ugyanis mind a vad típusú mind a Tks4-KO egerekből izolált sztróma sejtek egyformán képesek voltak zsír irányú differenciációra. Ellenben van eltérés a barnazsír marker UCP1 szintjében minden vizsgált szövetben. Ez a Tks4-KO egerek esetében közel egyforma függetlenül az anatómiai eredetre (4C. ábra). Nyolcvannégy zsír differenciációhoz és élettanhoz köthető gén megvizsgálásával felderítettük, hogy Tks4 hiányában a PPAR γ jelátvitel egyensúlya eltolódik barna/bézs irányba.



3. ábra. A Tks4-KO szferoidok összehasonlítása vad típusú szferoidokkal. A) Vad típusú és Tks4-KO szferoidok a szferoid képzés elején (felső sor) és harmincöt óra után (alsó sor). **B)** Normalizált terület vad típusú és Tks4-KO szferoidok esetében. A vonal 9-9 szferoid mért átlaga, az árnyékolt terület SEM-et ábrázol. **C)** Vad típusú és Tks4-KO szferoid 72 órával kollagénbe történő ágyazás után. Infiltráló sejtek, sejtcsoportok fehér nyílhegygel jelölve. **D)** Infiltráló sejtek/sejtcsoportok által elfoglalt terület az idő függvényében ábrázolva. A vonal három vad típusú, illetve hat Tks4-KO szferoidot tartalmazó látótér mért átlaga, az árnyékolt terület SEM-et ábrázol.

A Tks4 EMT-t befolyásoló konkrét mechanizmusát nem derítettük fel. Az egyik lehetséges eshetőség a Tks4 EGFR jelátvitelben betöltött szerepe.



4. ábra Vad típusú és Tks4-KO egerekből izolált zsírszövetek összevetése. **A)** A Tks4-KO szövetekben Snail transzkripciós faktorok általánosságban emelkedést mutatnak. Twist számottevően emelkedett gonadális fehér és barna Tks4-KO zsírszövetekben. N=3-3 **B)** Haematoxin-eozin festett vad típusú és Tks4-KO zsírszövetek. **C)** UCP1 specifikus immunhisztokémiai festése vad típusú és Tks4-KO zsírszöveteknek.

Az EGFR jelpályáról ismert, hogy képes EMT megindítására, a Tks4 ebben lehet egy negatív szabályozó elem [4]. Egy másik lehetséges válasz a Tks4 ROS képzésben való részvétele. Egy megbolygatott ROS egyensúly EMT-hez vezethet

[5]. A Tks4 zsírszövetekre gyakorolhat hatást a SNAIL család vagy a TWIST transzkripciós faktorokon keresztül. Ezekről ismert, hogy képesek negatívan befolyásolni az adipogenezist a PPAR γ jelátvitel gátlásán keresztül.

Jelenleg nincs olyan publikáció, ami közvetlenül összekapcsolná a Tks4 állványfehérjét és a SNAIL1/2, TWIST transzkripciós faktorokat. Az egyik lehetséges megoldás az SH3 domének kevésbé szelektív ligandumkötése lehet. A meglehetősen rövid, mindösszesen 60 aminosav hosszúságú domének kevésbé tesznek különbséget kötőszekvenciáik között, így a lehetséges Tks4 partnerek száma bizonyára nő a jövőben. Másrészt a Tks4 harmadik és negyedik SH3 doménjei között lévő hosszú rendezetlen régiót vizsgálva az ELM adatbázis 140 diszkrét lehetséges ligand szekvenciát talált. Feltételezhető tehát hogy ez a részlet az SH3 doméneken túl egyéb partnerek kötésére is alkalmassá teszi a fehérjét. Összegezve, a Tks4 minden valószínűséggel egy eddig ismeretlen, sokkal nagyobb kölcsönhatási hálózattal rendelkezik.

A doktori dolgozat alapjául szolgáló publikációk

Szeder, B., Tárnoki-Zách, J., Lakatos, D., Vas, V., Kudlik, G., Merő, B., Koprivanacz, K., Bányai, L., Hámori, L., Róna, G., Czirók, A., Füredi, A., Buday, L. (2019) Absence of the Tks4 Scaffold Protein Induces Epithelial-Mesenchymal Transition-Like Changes in Human Colon Cancer Cells. *Cells*, **8**: 1343. doi: 10.3390/cells8111343.

Vas, V., Háhner, T., Kudlik, G., Ernszt, D., Kvell, K., Kuti, D., Kovács, K.J., Tóvári, J., Trexler, M., Merő, B.L., Szeder, B., Koprivanacz, K., Buday, L. (2019) Analysis of Tks4 Knockout Mice Suggests a Role for Tks4 in Adipose Tissue Homeostasis in the Context of Beigeing. *Cells*, **8**: 831. <https://doi.org/10.3390/cells8080831>.

Irodalomjegyzék

- [1] Alexa, A., Varga, J., Reményi, A. (2010) Scaffolds are 'active' regulators of signaling modules. *FEBS J*, **277(21)**: 4376–4382.
- [2] Mero, B., Radnai, L., Gógl, G., Tőke, O., Leveles, I., Koprivanacz, K., Szeder, B. *et al.* (2019) Structural insights into the tyrosine phosphorylation-mediated inhibition of SH3 domain–ligand interactions. *J Biol Chem*, **294(12)**: 4608–4620.
- [3] Iqbal, Z., Cejudo-Martin, P., de Brouwer, A., van der Zwaag, B., Ruiz-Lozano, P., Scimia, M.C. *et al.* (2010) Disruption of the Podosome Adaptor Protein TKS4 (SH3PXD2B) Causes the Skeletal Dysplasia, Eye, and Cardiac

Abnormalities of Frank-Ter Haar Syndrome. *Am J Hum Genet*, **86(2)**: 254–261.

- [4] Dülk, M., Kudlik, G., Fekete, A., Ernszt, D., Kvell, K., Pongrácz, J.E. *et al.*, (2016) The scaffold protein Tks4 is required for the differentiation of mesenchymal stromal cells (MSCs) into adipogenic and osteogenic lineages. *Sci Rep*, **6(1)**: 34280.
- [5] Jiao, L., Li, D.D., Yang, C.L., Peng, R.Q., Guo, Y.Q., Zhang, X.S., Zhu, X.F. (2016) Reactive oxygen species mediate oxaliplatin-induced epithelial-mesenchymal transition and invasive potential in colon cancer. *Tumor Biol*, **37(6)**: 8413–8423.

KIEMELKEDŐ KÖZLEMÉNYEK 2022. I) IF>8

Abolhassani, H., Avcin, T., Bahceciler, N., Balashov, D., Bata, Z., Bataneant, M., Belevtsev, M., Bernatowska, E., Bidló, J., Blazsó, P., Boisson, B., Bolkov, M., Bondarenko, A., Boyarchuk, O., Bundschu, A., Casanova, J., Chernishova, L., Ciznar, P., Csürke, I., Erdős, M., Farkas, H., Fomina, D., Galal, N., Goda, V., Guner, S., Hauser, P., Ilyina, N., Iremadze, T., Iritsyan, S., Ismaili, -, Jesenak, M., Kelecic, J., Keles, S., Kindle, G., Kondratenko, I., Kostyuchenko, L., Kovzel, E., Kriván, G., Kuli, -, Kumánovics, G., Kurjane, N., Latysheva, E., Latysheva, T., Lázár, I., Markelj, G., Markovic, M., Maródi, L., Mammadova, V., Medvecz, M., Miltner, N., Mironska, K., Modell, F., Modell, V., Mosdósi, B., Mukhina, A., Murdjeva, M., Múzes, G., Nabieva, U., Nasrullayeva, G., Naumova, E., Nagy, K., Ónozó, B., Orozbekova, B., Pac, M., Pagava, K., Pampura, A., Pasic, S., Petrosyan, M., Petrovic, G., Pocek, L., Prodeus, A., Reisli, I., Ress, K., Rezaei, N., Rodina, Y., Rumyantsev, A., Sciuca, S., Sediva, A., Serban, M., Sharapova, S., Shcherbina, A., Sitkaustiene, B., Snimshchikova, I., Spahiu, -, Szolnoky, M., Szűcs, G., Toplak, N., Lajszné Tóth, B., Tsyvkina, G., Tuzankina, I., Vlasova, E., Volokha, A. (2022) Care of patients with inborn errors of immunity in thirty J Project countries between 2004 and 2021. *Front Immunol*, 13(13): 1032358. IF: 8.786

Alexa, A., Sok, P., Gross, F., Albert, K., Kobori, E., Póti, Á.L., Gógl, G., Bento, I., Kuang, E., Taylor, S.S., Zhu, F., Ciliberto, A., Reményi, A. (2022) A non-catalytic herpesviral protein reconfigures ERK-RSK signaling by targeting kinase docking systems in the host. *Nat Commun*, 13(1):472. IF: 17.694

Annus, T., Müller, D., Jezsó, B., Ullaga, G., Németh, B., Harami, G.M., Orbán, L., Kovács, M., Varga, M. (2022) Bloom syndrome helicase contributes to germ line development and longevity in zebrafish. *Cell Death Dis*, 13(4):363. IF: 9.685

Bhattacharjee, A., Ürmösi, A., Jipa, A., Kovács, L., Deák, P., Szabó, Á., Juhász, G. (2022) Loss of ubiquitinated protein autophagy is compensated by persistent cnc/NFE2L2/Nrf2 antioxidant responses. *Autophagy*, 18(10):2385-2396. IF: 13.391

Birinyi, Z., Reder, D., Diós, Á., Korponay-Szabó, I.R., Hunyadi-Gulyás, É., Florides, C.G., Juhász, A., Gell, Gy. (2022) Immunoanalytic investigation of grain

proteins antigenic for celiac disease patients in an einkorn collection. *Food Chem*, 371:131148. IF: 9.231

Bratek-Skicki, A., Van Nerom, M., Maes, D., Tompa, P. (2022) Biological colloids: Unique properties of membraneless organelles in the cell. *Adv Colloid Interface Sci*, 310:102777. IF: 15.190

Chen, D., Gervai, J.Z., Póti, Á., Németh, E., Szeltner, Z., Szikriszt, B., Gyüre, Z., Zámboreszky, J., Ceccon, M., d'Adda di Fagagna, F., Szallasi, Z., Richardson, A.L., Szüts, D. (2022) BRCA1 deficiency specific base substitution mutagenesis is dependent on translesion synthesis and regulated by 53BP1. *Nat Commun*, 13(1):226. IF: 17.694

Czimmerer, Z., Halász, L., Dániel, B., Varga, Z., Bene, K., Domokos, A., Hoeksema, M., Shen, Z., Berger, W., Silye-Cseh, T., Jambrovics, K., Kolostyák, Z., Fenyvesi, F., Váradi, J., Pólska, S., Hajas, G., Szatmári, I., Glass, C., Bácsi, A., Nagy, L. (2022) The epigenetic state of IL-4-polarized macrophages enables inflammatory cistromic expansion and extended synergistic response to TLR ligands. *Immunity*, 55(11):2006-2026.e6 IF: 43.474

Dajnoki, Z., Somogyi, O., Retzlerné Medgyesi, B., Jenei, A., Szabó, L., Gáspár, K., Hendrik, Z., Gergely, P., Imre, D., Pólska, S., Töröcsik, D., Zouboulis, C., Prens, E., Kapitány, A., Szegedi, A. (2022) Primary alterations during the development of hidradenitis suppurativa. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 36(3):462-471. IF: 9.228

Dobó, J., Kocsis, A., Dani, R., Gál, P. (2022) Proprotein Convertases and the Complement System. *Front Immunol*, 13:958121. IF: 8.786

Dörner, K., Badertscher, L., Horváth, B., Hollandi, R., Molnár, C., Fuhrer, T., Meier, R., Sárázová, M., van den Heuvel, J., Zamboni, N., Horvath, P., Kutay, U. (2022) Genome-wide RNAi screen identifies novel players in human 60S subunit biogenesis including key enzymes of polyamine metabolism. *Nucleic Acids Res*, 50(5):2872-2888. IF: 19.160

Farkas, Z., Kovács, K., Sarkadi, Z., Kalapis, D., Fekete, G., Birtyik, F., Ayaydin, F., Molnár, C., Horváth, P., Pál, Cs., Papp, B. (2022) Gene loss and compensatory evolution promotes the emergence of morphological novelties in budding yeast.

Nat Ecol Evol, 6(6):763-773. IF: 19.100

Golomingi, M., Kohler, J., Jenny, L., Hardy, E.T., Dobó, J., Gál, P., Pál, G., Kiss, B., Lam, W.A., Schroeder, V. (2022) Complement lectin pathway components MBL and MASP-1 promote haemostasis upon vessel injury in a microvascular bleeding model. *Front Immunol*, 13:948190. IF: 8.786

Göcz, B., Rumppler, É., Sárvári, M., Skrapits, K., Takács, S., Farkas, I., Csillag, V., Trinh, S., Bardóczi, Z., Ruska, Y., Solymosi, N., Póliska, S., Szőke, Z., Bartoloni, L., Zouaghi, Y., Messina, A., Pitteloud, N., Anderson, R., Millar, R., Quinton, R., Manchishi, S., Colledge, W., Hrabovszky, E. (2022) Transcriptome profiling of kisspeptin neurons from the mouse arcuate nucleus reveals new mechanisms in estrogenic control of fertility. *Proc Natl Acad Sci USA*, 119(27):e2113749119. IF: 12.779

Harami, G.M., Pálincás, J., Seol, Y., Kovács, Z.J., Gyimesi, M., Harami-Papp, H., Neuman, K.C., Kovács, M. (2022) The topoisomerase III α -RMI1-RMI2 complex orients human Bloom's syndrome helicase for efficient disruption of D-loops. *Nat Commun*, 13(1):654. IF: 17.694

Hatos, A., Monzon, A., Tosatto, S., Piovesan, D., Fuxreiter, M. (2022) FuzDB: a new phase in understanding fuzzy interactions. *Nucleic Acids Res*, 50(D1):D509-D517. IF: 19.160

Hollandi, R., Moshkov, N., Paavolainen, L., Tasnádi, E., Piccinini, F., Horváth, P. (2022) Nucleus segmentation: towards automated solutions. *Trends Cell Biol*, 32(4):295-310. IF: 21.167

Karányi, Z., Mosolygó, Á., Feró, O., Horváth, A., Boros-Oláh, B., Nagy, É., Hetey, S., Holb, I., Szaker, H., Miskei, M., Csorba, T., Székvölgyi, L. (2022) NODULIN HOMEBOX is required for heterochromatin homeostasis in Arabidopsis. *Nat Commun*, 13(1):5058. IF: 17.694

Kulcsár, P.I., Tálas, A., Ligeti, Z., Krausz, S.L., Welker, E. (2022) SuperFi-Cas9 exhibits remarkable fidelity but severely reduced activity yet works effectively with ABE8e. *Nat Commun*, 13(1):6858. IF: 17.694

Kumar, M., Michael, S., Alvarado-Valverde, J., Mészáros, B., Sámano-Sánchez,

H., Zeke, A., Dobson, L., Lazar, T., Örd, M., Nagpal, A., Farahi, N., Käser, M., Kraleti, R., Davey, N.E., Pancsa, R., Chemes, L.B., Gibson, T.J. (2022) The Eukaryotic Linear Motif resource: 2022 release. *Nucleic Acids Res*, 50(D1):D497-D508. IF: 19.160

Laczik, M., Erdős, E., Ozgyin, L., Hevessy, Z., Csősz, É., Kalló, G., Nagy, T., Barta, E., Póliska, S., Szatmári, I., Bálint, B. (2022) Extensive proteome and functional genomic profiling of variability between genetically identical human B-lymphoblastoid cells. *Sci Data*, 9(1):763. IF: 8.501.

Luecken, M.D., Zaragosi, L-E., Madisson, E., Sikkema, L., Firsova, A.B., De Domenico, E., Kümmerle, L., Saglam, A., Berg, M., Gay Aurore, C.A., Schniering, J., Mayr, C.H., Abalo, X.M., Larsson, L., Sountoulidis, A., Teichmann, S.A., van Eunen, K., Koppelman, G.H., Saeb-Parsy, K., Leroy, S., Powell, P., Sarkans, U., Timens, W., Lundberg, J., van den Berge, M., Nilsson, M., Horváth, P., Denning, J., Papatheodorou, I., Schultze, J.L., Schiller, H.B., Barbry, P., Petoukhov, I., Misharin, A.V., Adcock, I.M., von Papen, M., Theis, F.J., Samakovlis, C., Meyer, K.B., Nawin, M.C. (2022) The discovAIR project: a roadmap towards the Human Lung Cell Atlas. *Eur Respir J*, 60(2):2102057. IF: 33.795

Mathur, L., Szalai, B., Du, N.H., Utharala, R., Ballinger, M., Landry, J.J.M., Ryckelynck, M., Benes, V., Saez-Rodriguez, J., Merten, C.A. (2022) Combi-seq for multiplexed transcriptome-based profiling of drug combinations using deterministic barcoding in single-cell droplets. *Nat Commun*, 13(1):4450. IF: 17.694

Mazzeschi, M., Sgarzi, M., Romaniello, D., Gelfo, V., Cavallo, C., Ambrosi, F., Morselli, A., Miano, C., Laprovitera, N., Girone, C., Ferracin, M., Santi, S., Rihawi, K., Ardizzoni, A., Fiorentino, M., D'Uva, G., Győrffy, B., Palmer, R., Lauriola, M. (2022) The autocrine loop of ALK receptor and ALKAL2 ligand is an actionable target in consensus molecular subtype 1 colon cancer. *J Exp Clin Cancer Res*, 41(1):113. IF: 12.658

Micsonai, A., Moussong, É., Wien, F., Boros, E., Vadász, H., Murvai, N., Lee, Y.H., Molnár, T., Réfrégiers, M., Goto, Y., Tantos, Á., Kardos, J. (2022) BeStSel: webserver for secondary structure and fold prediction for protein CD spectroscopy. *Nucleic Acids Res*, 50(W1):W90-W98. IF: 19.160

Miltner, N., Linkner, T., Ambrus, V., Al-Muffti, A., Ahmad, H., Mótyán, J., Benkő, S., Tózsér, J., Mahdi, M. (2022) Early suppression of antiviral host response and protocadherins by SARS-CoV-2 Spike protein in THP-1-derived macrophage-like cells. *Front Immunol*, 13:999233. IF: 8.786

Mund, A., Coscia, F., Kriston, A., Hollandi, R., Kovács, F., Brunner, D.A., Migh, E., Schweizer, L., Santos, A., Bzorek, M., Naimy, S., Rahbek-Gjerdrum, L.M., Dyring-Andersen, B., Bulkescher, J., Lukas, C., Eckert, A.M., Lengyel, E., Gnann, C., Lundberg, E., Horvath, P., Mann, M. (2022) Deep Visual Proteomics defines single-cell identity and heterogeneity. *Nat Biotechnol*, 40(8):1231-1240. IF: 68.164

Panca, R., Fichó, E., Molnár, D., Surányi, É.V., Trombitás, T., Füzesi, D., Lóczi, H., Szijjártó, P., Hirmondó, R., Szabó, J.E., Tóth, J. (2022) dNTPpoolDB: a manually curated database of experimentally determined dNTP pools and pool changes in biological samples. *Nucleic Acids Res*, 50(D1):D1508-D1514. IF: 19.160

Papp, A., Papp, K., Uzonyi, B., Cserhalmi, M., Csincsi, Á.I., Szabó, Z., Bánlaki, Z., Ermert, D., Prohászka, Z., Erdei, A., Ferreira, V.P., Blom, A.M., Józsi, M. (2022) Complement Factor H-Related Proteins FHR1 and FHR5 Interact With Extracellular Matrix Ligands, Reduce Factor H Regulatory Activity and Enhance Complement Activation. *Front Immunol*, 13:845953. IF: 8.786

Patsalos, A., Halász, L., Medina-Serpas, M., Berger, W., Dániel, B., Tzerpos, P., Kiss, M., Nagy, G., Fischer, C., Simándi, Z., Varga, T., Nagy, L. (2022) A growth factor-expressing macrophage subpopulation orchestrates regenerative inflammation via GDF-15. *J Exp Med*, 219(1): e20210420. IF: 17.579

Pirhonen, J., Szkalitsy, Á., Hagstrom, J., Kim, Y., Might, E., Kovács, M., Holttä, M., Peranen, J., Seppanen, H., Haglund, C., Gil, J., Rezeli, M., Malm, J., Horváth, P., Markó-Varga, Gy., Puolakkainen, P., Ikonen, E. (2022) Lipid Metabolic Reprogramming Extends beyond Histologic Tumor Demarcations in Operable Human Pancreatic Cancer. *Cancer Res*, 82(21):3932-3949. IF: 13.312

Quaglia, F., Mészáros, B., Salladini, E., Hatos, A., Panca, R., Chemes, L.B., Pajkos, M., Lazar, T., Peña-Díaz, S., Santos, J., Ács, V., Farahi, N., Fichó, E., Aspromonte, M.C., Bassot, C., Chasapi, A., Davey, N.E., Davidović, R., Dobson,

L., Elofsson, A., Erdős, G., Gaudet, P., Giglio, M., Glavina, J., Iserte, J., Iglesias, V., Kálmán, Z., Lambrugh, M., Leonardi, E., Longhi, S., Macedo-Ribeiro, S., Maiani, E., Marchetti, J., Marino-Buslje, C., Mészáros, A., Monzon, A.M., Minervini, G., Nadendla, S., Nilsson, J.F., Novotný, M., Ouzounis, C.A., Palopoli, N., Papaleo, E., Pereira, P.J.B., Pozzati, G., Promponas, V.J., Pujols, J., Rocha, A.C.S., Salas, M., Sawicki, L.R., Schad, E., Shenoy, A., Szaniszló, T., Tsirigos, K.D., Veljkovic, N., Parisi, G., Ventura, S., Dosztányi, Z., Tompa, P., Tosatto, S.C.E., Piovesan, D. (2022) DisProt in 2022: improved quality and accessibility of protein intrinsic disorder annotation. *Nucleic Acids Res*, 50(D1):D480-D487. IF: 19.160

Rahman, A., Lőrincz, P., Gohel, R., Nagy, A., Csordás, G., Zhang, Y., Juhász, G., Nezis, I.P. (2022) GMAP is an Atg8a-interacting protein that regulates Golgi turnover in *Drosophila*. *Cell Rep*, 39(9):110903. IF: 9.995

Raskó, T., Pande, A., Radsch, 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. *Mol Biol Evol* 39(10):msac175. IF: 8.800

Rona, G., Zeke, A., Miwatani-Minter, B., de Vries, M., Kaur, R., Schinlever, A., Garcia, S.F., Goldberg, H.V., Wang, H., Hinds, T.R., Bailly, F., Zheng, N., Cotellet, P., Desmaële, D., Landau, N.R., Dittmann, M., Pagano, M. (2022) The NSP14/NSP10 RNA repair complex as a Pan-coronavirus therapeutic target. *Cell Death Differ*, 29(2):285-292. IF: 12.067

Saado, I., Chia, K.-S., Betz, R., Alcantara, A., Pettko-Szandtner, A., Navarrete, F., D'Auria, J.C., Kolomiets, M.V., Melzer, M., Feussner, I., Djamei, A. (2022) Effector-mediated relocalization of a maize lipoxygenase protein triggers susceptibility to *Ustilago maydis*. *Plant Cell*, 34(7):2785-2805. IF: 12.085

Serra, A., Fratello, M., Federico, A., Ojha, R., Provenzani, R., Tasnádi, E., Cattelani, L., del Giudice, G., Kinaret, P.A.S., Saarimäki, L.A., Pavel, A., Kuivanen, S., Cerullo, V., Vapalahti, O., Horváth, P., Di Lieto, A., Yli-Kauhaluoma, J., Balistreri, G., Greco, D. (2022) Computationally prioritized drugs inhibit SARS-CoV-2 infection and syncytia formation. *Brief Bioinform*, 23(1):bbab507.

IF: 13.994

Sebák, F., Ecsédi, P., Bermel, W., Luy, B., Nyitray, L., Bodor, A. (2022) Selective ^1H NMR Methods Reveal Functionally Relevant Proline cis/trans Isomers in Intrinsically Disordered Proteins: Characterization of Minor Forms, Effects of Phosphorylation, and Occurrence in Proteome. *Angew Chem Int Ed Engl*, 61(1):e202108361. IF: 16.823

Szádeczky-Kardoss, I., Szaker, H.M., Verma, R., Darkó, É., Pettkó-Szandtner, A., Silhavy, D., Csorba, T. (2022) Elongation factor TFIIS is essential for heat stress adaptation in plants. *Nucleic Acids Res*, 50(4): 1927-1950. IF: 19.160

Szondy, Z., Al Zaeed, N., Tarban, N., Fige, É., Garabuczi, É., Sarang, Z. (2022) Involvement of phosphatidylserine receptors in the skeletal muscle regeneration: therapeutic implications. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 13(4):1961-1973. IF: 12.063

Szüts D. (2022) A fresh look at somatic mutations in cancer. *Science*, 376(6591):351-352. IF: 63.714

Tarca, A.L., Taran, A., Romero, R., Jung, E., Paredes, C., Bhatti, G., Ghita, C., Chaiworapongsa, T., Than, N.G., Hsu, C.D. (2022) Prediction of preeclampsia throughout gestation with maternal characteristics and biophysical and biochemical markers: a longitudinal study. *Am J Obstet Gynecol*, 226(1):126.e1-126.e22. IF: 10.693

Tóth, E.M., Sárközy, M., Szűcs, G., Dukay, B., Hajdu, P., Zvara, Á., Puskás, L.G., Szebeni, G.J., Ruppert, Zs., Csonka, C., Kovács, F., Kriston, A., Horváth, P., Kővári, B., Cserni, G., Csont, T., Sántha, M. (2022) Exercise training worsens cardiac performance in males but does not change ejection fraction and improves hypertrophy in females in a mouse model of metabolic syndrome. *Biol Sex Differ*, 13(1):5. IF: 8.811

Tóth, V., Vadászi, H., Ravasz, L., Mittli, D., Mátyás, D., Molnár, T., Micsonai, A., Szaniszló, T., Lőrincz, P., Kovács, R.Á., Juhász, T., Beke-Somfai, T., Juhász, G., Györffy, B.A., Kékesi, K.A., Kardos, J. (2022) Neuronal-specific septin-3 binds Atg8/LC3B, accumulates and localizes to autophagosomes during induced autophagy. *Cell Mol Life Sci*, 79(9):471. IF:9.207

Vágó, J., Katona, É., Takács, R., Dócs, K., Hajdú, T., Kovács, P., Zákány, R., van der Veen, D.R., Matta, C. (2022) Cyclic uniaxial mechanical load enhances chondrogenesis through entraining the molecular circadian clock. *J Pineal Res*, 73(4):e12827. IF: 12.081

Zeke, A., Schád, É., Horváth, T., Abukhairan, R., Szabó, B., Tantos, A. (2022) Deep structural insights into RNA-binding disordered protein regions. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 13(5):e1714. IF: 9.349

Zeke, A., Takács, T., Sok, P., Németh, K., Kirsch, K., Egri, P., Póti, Á.L., Bento, I., Tusnády, G.E., Reményi, A. (2022) Structural insights into the pSer/pThr dependent regulation of the SHP2 tyrosine phosphatase in insulin and CD28 signaling. *Nat Commun*, 13(1):5439. IF: 17.694

Zelenka, T., Klonizakis, A., Tsoukatou, D., Papamatheakis, D., Franzenburg, S., Tzerpos, P., Tzonevrakis, I., Papadogkonas, G., Kapsetaki, M., Nikolaou, C., Plewczynski, D., Spilianakis, C. (2022) The 3D enhancer network of the developing T cell genome is shaped by SATB1. *Nat Commun*, 13(1):6954. IF: 17.694

KIEMELKEDŐ KÖZLEMÉNYEK 2022.
II) BIOKÉMIAI SZERVEZETEK KIADVÁNYAI

Caballero-Sánchez, N., Alonso-Alonso, S., Nagy, L. (2022) Regenerative inflammation: When immune cells help to re-build tissues. *FEBS J*, 20:335–337. IF: 5.622

Márton, M., Bánhegyi, G., Gyöngyösi, N., Kálmán, E.É., Pettkó-Szandtner, A., Káldi, K., Kapuy, O. (2022) A systems biological analysis of the ATF4-GADD34-CHOP regulatory triangle upon endoplasmic reticulum stress. *FEBS Open Bio*, 12(11):2065-2082. IF: 2.792

Réthy-Nagy, Z., Ábrahám, E., Lipinszki, Z. (2022) RESEARCH PROTOCOL GST-IVTT pull-down: a fast and versatile in vitro method for validating and mapping protein-protein interactions. *FEBS Open Bio*, 12(11):1988-1995. IF: 2.792

Shaw, A., Bartáné Tóth, B., Győry, F., Fésüs, L., Kristóf, E. (2022) Irisin stimulates the release of CXCL1 via upregulation of NFκB pathway from human neck derived differentiating adipocytes. *FEBS Open Bio*, 12(S1):208. IF: 2.792

Szabó, A.L., Sánta, A., Pancsa, R., Gáspári, Z. (2022) Charged sequence motifs increase the propensity towards liquid-liquid phase separation. *FEBS Lett*, 596(8):1013-1028. IF: 3.864

Wisniewski, É., Czárán, D., Kovács, F., Bahurek, E., Németh, A., Sasvári, P., Szanda, G., Pettkó-Szandtner, A., Klement, É., Ligeti, E., Csépanyi-Kömi, R. (2022) A Novel BRET-Based GAP Assay Reveals Phosphorylation-Dependent Regulation of the RAC-specific GTPase activating protein ARHGAP25. *FASEB J*, 36(11):e22584. IF: 5.834

Kedves Kollégák!

A hagyománynak megfelelően, **2023-ban** is május közepén kerül megrendezésre **Sümege**n, az **52. Membrán-Transzport Konferencia**, mely továbbra is őrzi a multidiszciplináris jelleget, a Gordon-Konferenciák nyitott, párbeszédese formáit szem előtt tartva. Így lehetőség van a legváltozatosabb területeken természettudományos kutatást végző szakembereknek találkozni, egymástól tanulni és baráti légkörben eszmecserét folytatni.

A konferenciát idén a Pécsi Tudományegyetem két munkacsoportja szervezi, amely kicsit megszabja a fő tématerületeket, melyek a komplex **jelátviteli mechanizmusok** köré csoportosulnak elsősorban az immunrendszer és a neuronális rendszer működésével kapcsolatban. Lesz szó a membrán-transzporter fehérjék szerkezetéről, funkcióiról, a membrán lipid raftjainak szerepéről és befolyásolási lehetőségeiről, de organogenezisről és az immunrendszer sejtjeiben zajló jelátviteli folyamatokról is. Várjuk a biofizika, biokémia, genetika, élettan, onkológia, gyógyszer tudomány és elméleti orvostudományi kutatási eredményeket bemutató absztraktokat, melyek kapcsolódnak a membrán működéséhez, az abban zajló jelátviteli útvonalakhoz, melyek megváltoztatják a sejtek funkcióit, túlélésüket vagy pusztulásukat okozva.

A kutatócsoportok vezetőinek referátum-szerű nagyelőadásai mellett, mindig szót kapnak a fiatalok is, akik közül a bemutatott poszterek alapján előadásokat válogatunk. Annak érdekében, hogy még nagyobb figyelmet kapjanak a fiatalok, felkérünk minden poszter bemutatót, hogy a délutáni poszter szekció ideje alatt 5 percben demonstrálja el munkáját. Az utolsó napon a bizottság által kiválasztott legjobb poszterek előadás formájában is bemutatásra kerülnek.

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

A tudományos programok hatékonyságát és sikerét a helyszín, a Hotel Kapitány varázslatos atmoszférája és a Remedicon Kft. munkatársainak nagyszerű szervező munkája, valamint a kiállítóknak és szponzoroknak nagylelkű támogatása teszi lehetővé.

További információk és regisztráció:

<https://www.remedicon.hu/325/52-membran-transzport-konferencia>

Szervező Bizottság:

Dr. Balogh Péter PTE, KK, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet

Dr. Berki Timea PTE, KK, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet

Dr. Németh Péter PTE, KK, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet

Dr. Helyes Zsuzsanna PTE, ÁOK, Farmakológiai Intézet

Dr. Pintér Erika PTE, ÁOK, Farmakológiai Intézet

Dr. Szőke Éva PTE, ÁOK, Farmakológiai Intézet

A szervezőbizottság nevében:

Dr. Berki Timea
Pécsi Tudományegyetem,
Immunológiai és Biotechnológiai Intézet

MEGHIVÓ

Az MTA Peptidkémiai Munkabizottság tudományos ülését **2023. május 8-10.** között tartjuk a Richter Gedeon Nyrt. balatonszemesi üdülőjében. A rendezvény hétfőn kora délután kezdődik, és szerdán délben fejeződik be.

Felkért előadók:

David Aitken, University of Paris-Saclay, Institute of Molecular and Material Chemistry

Urbányi Zoltán, Richter Gedeon, Biotechnológiai Kutatási Osztály

Spohn Réka, ELKH SZBK, Szintetikus és Rendszerbiológiai Egység

Kiss Lóránd, ELKH TTK, Szerves Kémiai Intézet

Kiss Éva, ELTE Kémiai Intézet

Várjuk 15+5 és 20+5 perces, preferáltan angol nyelvű előadások bejelentését. Poszter előadásokkal is lehet jelentkezni, melyekhez kapcsolódóan külön szekciót kívánunk szentelni flash prezentációknak (1-2 dia) a poszterek számának függvényében. A Medzihradszky Kálmán Előadói Díjat a 40 év alatti előadók közül egy szakmai zsűri három kutatónak ítéli oda.

Regisztráció: <https://peptidkemia.hu/hirek>

Jelentkezési határidő: 2023. április 15.

Kérjük, hogy amennyiben nem kapja meg a visszaigazoló e-mailt, akkor a spam mappában is ellenőrizze.

A részvételi díj 75 070 Ft. Fizetési határidő: 2023. április 30.

Ha a részvétel a munkabizottsági ülés teljes időtartamára akadályba ütközik, kérjük, hogy a regisztrációkor jelezzék.

A Magyar Kémikusok Egyesülete előre küldi ki a számlákat, amelyek utólagos módosítására nem lesz mód. Nyomatékosan kérjük, hogy a kifizetéshez szükséges, számlán feltüntetendő adatokat (engedély szám, témaszám, stb.) a munkáltatójával egyeztetve a regisztrációs űrlapon a Speciális számlázási igény mezőben adja meg.

Kérjük, hogy a számlázással kapcsolatosan Gónusz Andreát (MKE, gonusz@mke.org.hu) keressék. Egyéb kérdésekben Hetényi Anasztázia (PKMB

titkár, hetenyi.anasztazia@med.u-szeged.hu) ad felvilágosítást.

Kérjük, hogy a nem munkabizottsági tagok figyelmét is hívják fel a konferenciára.

Várjuk jelentkezését!

Prof. Martinek Tamás
PKMB elnök

Dr. Hetényi Anasztázia
PKMB titkár

**PROF. SZÖLLŐSI JÁNOS ÉS PROF. SZABÓ GÁBOR
KÖSZÖNTÉSE 70. SZÜLETÉSNAPJUK ALKALMÁBÓL**

A Debreceni Egyetem Biofizikai és Sejtbiológiai Intézetének szervezésében került megrendezésre 2023. február 1-én az egyetem Kenézy Villájában egy ünnepléssel egybekötött szimpózium, melyen az intézet, az egyetem és a magyar biofizikai és sejtbiológiai közösség képviselői köszöntötték Jánost és Gábort 70. születésnapjukon. A megemlékezés egyszerre volt tudományos, visszatekintő és baráti, amelyet tükröz alcíme („Hetvenkedők”), és ez az írás is ennek szellemében született.

Az előadók, akik az ünnepeltek közelebbi és távolabbi kollégái közül kerültek ki, felidéztek a két nem mindennapi életpályát, melyekből kiderült, hogy a két professzor karrierjének nyilvánvaló metszete, az azonos munkahely mellett mindkettőjükben közös a tudomány szeretete, a felnőttkorban is megőrzött gyerekes kíváncsiság, amellyel egy megoldandó probléma felé fordultak.

Mindkettőjük teljes életpályája a Debreceni Egyetem Biofizikai és Sejtbiológiai Intézetéhez kötődik, virtuális munkakönyvükben mégis azért szerepel több bejegyzés, mert időközben mind az egyetem, mind az intézet hivatalos neve megváltozott. 1969-ben Damjanovich Sándor olyan mértékben megreformálta a debreceni Orvosi Biofizikai Intézetet, hogy joggal tartjuk második honalapítónak az intézet történelemkönyvében. Nagyratörő tervei megvalósításához, melyekkel a molekuláris és celluláris biofizika kelet-európai fellelővárát igyekezett felépíteni, a kihívás mértékének megfelelő embereket keresett. Így került Gábor és János az intézetbe, ahol mindketten a fluoreszcencia és áramlási citometria által meghatározott tudományos kérdésekkel kezdtek foglalkozni.

Lassan azonban kutatási projektjeikben megjelentek azon különbségek, amelyek későbbi munkacsoportjaik tudományos munkájának csíráiként értelmezhetőek. Gábort inkább a magszerkezet és a multidrog rezisztencia, míg Jánost a membránreceptorok szupramolekuláris szerveződése és ezek fluoreszcenciás tanulmányozása kezdte érdekelni. MTA Doktori fokozatukat 1992-ben, ill. 1996-ban védték meg, és mindketten tanszékvezetők lettek az újjászerveződő Biofizikai és Sejtbiológiai Intézetben belül. János a Biofizikai Tanszéket, míg Gábor a Sejtbiológiai Tanszéket vezette. Mindketten szakterületük nemzetközileg elismert szakemberei lettek, amit mi sem bizonyít jobban, minthogy János 2008-ban szervezője volt a Nemzetközi Citometriai

Társaság (ISAC) Budapesten megrendezett kongresszusának, míg Gábor 2013-ban a sejtmaggal foglalkozó, 23. Wilhelm Bernhard Workshopot szervezte meg Debrecenben. János munkásságának tekintélyes része a kvantitatív citometriai vizsgálatok kutatásával volt kapcsolatos, aminek elismeréseként 2011-ban a Nemzetközi Citometriai Társaságtól (ISAC) a „Distinguished Service Award” kitüntetésben részesült. János nyolc éven keresztül volt a Debreceni Egyetem Biofizikai és Sejtbiológiai Intézetének igazgatója, és ezen időszakban lett az MTA levelező, később pedig rendes tagja.

Erdei Anna, Erdélyi Miklós és Vígh László méltatta az ünnepeltek szakmai életútját. Mindhárom kolléga, ill. barát megemléltette, hogy az elmúlt évtizedekben mind tudományszervezési, mint kutatási feladatok tekintetében számos olyan kezdeményezés köthető Gáborhoz és Jánoshoz, amely a magyar tudományosság fejlődését jelentősen elősegítette. A szimpóziumon Mátyus László, a Debreceni Egyetem ÁOK Dékánja és Panyi György, a Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet jelenlegi igazgatója próbálta érzékeltetni a közönséggel azt, hogy a debreceni Biofizika nemcsak tudományosság, de hangulat szempontjából is különleges hely a világban, melynek kialakításában a két ünnepelt fontos szerepet játszott. Ennek szellemében hangzott el Nagy Péter megemlékező előadása, mellyel a debreceni Biofizika történelmébe adott humoros betekintést. Ezt követően a „hetvenkedő” professzorok tanítványai közül Goda Katalin, Vereb György és Székvölgyi Lóránt osztotta meg a közönséggel az ünnepeltekkel kapcsolatos személyes emlékeit és a tanítómesterek nyomdokaiban járva elért tudományos eredményeit.

A szimpóziumon részt vevő mintegy 50 kolléga nevében ezúton is kívánjuk az ünnepelteknek, hogy eddigi sikereiben gazdag életútjuk még sokáig folytatódjon. Reméljük, hogy a rendezvény kötetlen és baráti hangulata megerősítette őket abban, hogy nemcsak munkájukra van szüksége az intézetnek és a magyar tudományos közösségnek, de barátságukra és személyes tanácsaikra, ill. meglátásaikra is.

Nagy Péter és Panyi György
DE, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet



Előttem az utódom. Székvölgyi Lóránt köszönti korábbi főnökét, Szabó Gábort.



Jenei Attila a Nemzetközi Oktatási Központ nevében köszönti Szöllősi Jánost.



Baráti és kötetlen hangulat a szimpóziumon.



„Szó bennszakad, hang fennakad, Lehellet megszegik. Ajtó megől fehér galamb, Ősz bárd emelkedik.” Gábor és János köszönetet mondanak a születésnapjuk tiszteletére megjelenteknek.



A két ünnepelt az általuk vizsgált fehérjék 3D nyomtatóval készült modelljét kapta ajándékkul az intézettől, melyet tudományossággal vegyes gyermeki rajongással fogadtak.

ELHUNYT GRÁF LÁSZLÓ PROFESSZOR ÚR

**Gráf László
(1942-2023)**
Fotó: mta.hu

Az ELTE Biokémiai Tanszékének közössége szomorúan tudatja, hogy életének 81. évében elhunyt Gráf László, az ELTE professor emeritusa, a Biokémiai Tanszék iskolateremtő hatású korábbi vezetője, a Szerkezeti Biokémia Doktori Program megalapítója, az MTA rendes tagja, a fehérjetudomány számos területén úttörő eredményeket elért biokémikus.

Gráf László az ELTE-s vegyészdiploma megszerzése után a Gyógyszerkutató Intézetben dolgozott, ahol a Biokémiai Osztály vezetője lett. A hetvenes-nyolcvanas években, az akkori nehézségek ellenére, jelentős nemzetközi kutatási tapasztalatokat szerzett.

Az ELTE Biokémiai Tanszékét 1986 és 2007 között vezette. Ebben az időszakban számos külföldön dolgozó fiatal kutató koncepciózus hazahívásával megalapozta a Tanszék jelenlegi szenior oktatógárdáját és ezáltal a tanszéki műhelyek jelenlegi kimagasló oktatási, kutatási és innovációs teljesítményét.

Gráf László fő kutatási területe a természetes peptidek (neuropeptidek, peptidhormonok) szerkezetének és biológiai funkciójának, valamint fehérje-bontó enzimek hatásmechanizmusának felderítése volt. Munkatársaival elsőként sikerült meghatározni a sertés és az emberi β -lipotropin hormonok, valamint az adrenokortikotróp hormon (ACTH) aminosav-sorrendjét. Nevéhez fűződik a β -endorfin külföldi kutatókkal egy időben való, független felfedezése. Elsőként honosította meg a géntechnológiai módszereket az ELTE-n, és elsőként alkalmazott irányított mutagenézist enzimek hatásmechanizmusának vizsgálatára.

Gráf László írásai számos alkalommal jelentek meg a Biokémia újságban. Legutóbb a 2022. decemberi lapszámban került közlésre egy vele készült, a munkásságának összegzését is tartalmazó interjú (lásd <https://www.mbkegy.hu/apps/mbkegy/pages/index.html#!/BiokemShow/2022/12/0064006500630065006d006200650072>).

Gráf professzor úr éles meglátásaira, kifinomult humorára, emlékezetes előadásaira, nagy hatású beszédeire mindig emlékezni fogunk. Kollégái és

barátai széles látókörű és műveltségű „reneszánsz emberként” ismerték.

Emlékét megőrizzük!

Az ELTE Biokémiai Tanszék közössége