

Biológiatudomány II.
2020. október 16. 13.00-15.15
Szekciófelelős:
Pecsics Anett Virág, +36 30 935 1344

Biológiatudomány II.		
Szekcióelnök: Prof. Dr. Kovács Kornél (SZTE)		
II. panel	13.00-13.15	Kovács Terézia
	13.15-13.30	Mészáros Tünde
	13.30-13.45	Miklovics Nikolett
	13.45-14.00	Oláh Dóra
	14.00-14.15	Szarka-Kovács Alexandra
	14.15-14.30	Szecskó Anikó
	14.30-14.45	Vigh Judit
	14.45-15.00	Réthy-Nagy Zsuzsánna
	15.00-15.15	Földi Csenge

Biológiatudomány II.
2020. október 16. 13.00-15.15
Szekciófelelős:
Pecsis Anett Virág, +36 30 935 1344

A *Synechocystis* sp. PCC6803 *cyt_b/f* komplexének PetD fehérjéjének az állapot átmenetekben betöltött szerepének feltérképezése

KOVÁCS Terézia

Szegedi Tudomány Egyetem, Természettudományi és Informatikai Kar; Szegedi Biológiai Kutatóközpont

Biológiatudomány, Növénybiológia

kovacs.terezia90@gmail.com

A fotoszintézis hatékonysága az oxigéntermelő fotoautotróf élőlények esetén a tilakoid membránba ágyazott két fotokémiai rendszer, az első és második fotokémiai rendszer összehangolt működésén alapul, és amely két rendszert egy elektrontranszportlánc köt össze a citokróm *cyt_b/f* komplexen keresztül.

A fotoszintézis maximális hatásfokának biztosításához a két fotokémiai rendszer elektrontranszportjának egyensúlya szükséges. Ennek az egyensúlynak a felborulását idézhetik elő, a két fotokémiai rendszer eltérő pigmentösszetétele miatt, a fény intenzitásában és spektrális eloszlásában bekövetkező változások. A két fotokémiai rendszer kiegyenlítetlensége a köztes elektrontranszport komponensek túlságosan oxidált vagy redukált állapotához vezethet, ami a fotoszintetikus apparátus károsodását okozhatja. Cianobaktériumokban és növényekben a két fotokémiai rendszer működésének finomhangolását az ún. állapot átmenetek biztosítják. Ez a folyamat a fotoszintetikus pigment-protein komplexek olyan molekuláris átrendeződésével járnak, melyek komplementer módon változtatják a két fotokémiai rendszer abszorpciós hatáskeresztmetszetét és aktivitását mindaddig, míg az elektrontranszport folyamatok egyensúlyba kerülnek.

Cianobaktériumokban az állapotátmenet rövid idő (10-15 perc) alatt lejátszódó folyamat. Feladata a fénybegyűjtő antennaként működő fikobiliszóma által elnyelt fényenergiának, az első és második fotokémiai rendszer közötti optimális eloszlásának szabályozása. Ezt a folyamatot a PQ/PQH₂ -rendszer redox állapota határozza meg. A *cyt_b/f* komplex központi szerepet játszik az állapotátmenet folyamatában. A cianobaktériumok esetében még ismeretlenek a PQ/PQH₂ redox állapot változását követő lépések az állapotátmenethez vezető jelátvitelében, de feltételezhető, hogy a *cyt_b/f* komplex fontos szerepet játszik benne. Munkánkban a *cyt_b/f* komplex fotoszintézisben és az állapotátmenetben betöltött szerepét vizsgáltuk, az általunk elkészített PetD – F124A mutáns segítségével.

Feltételezésünk szerint a *PetD* fehérje F124 aminosavának cseréje semleges töltöttségűre befolyásolja az állapotátmenetet, így a *PetD* mutáns segítségével vizsgálni tudjuk a jelátvitelt a PQ/PQH₂ redoxrendszer és a fikobiliszóma átrendeződése között. Arra is kíváncsiak voltunk, hogy ez a mutáció, milyen eltéréseket okoz majd a cianobaktérium törzs felépítésében, életfolyamataiban.

Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy a PetD – F124A fehérje mutációja befolyásolja (i) a fotooxidált P700⁺ redukciós kinetikájának sebességét, (ii) a fikobiliszóma és fikocianin mennyiségét, (iii) csökkenti a sejt állapot átmenetekre való képességét. Mindez együttesen a két fotokémiai rendszer közötti kiegyenlítetlen energia eloszlásra utal a mutáns törzsben.

A mutáns vonal tulajdonságainak megismerése után, munkánk folytatásaként szeretnénk tovább vizsgálni az állapotátmenet egyedi eltéréseit, ezáltal közelebb kerülni a folyamat szabályzásának leírásához.

A *Pulsatilla grandis* virágok jelentősége a kora tavaszi Aculeata (Hymenoptera) rovarok táplálkozásában

MÉSZÁROS Tünde, JÓZAN Zsolt

Pannon Egyetem, Georgikon Kar, Növénytudományi és Biotechnológiai Tanszék

Biológiatudomány

meszarost773@gmail.com

A megporzó rovarok száma jelentősen csökkent az utóbbi évtizedekben, melynek egyik oka, hogy a tájszerkezet átalakult, a táplálékul szolgáló növényfajok is visszaszorultak. A kora tavaszi vadvirágoknak kulcsfontosságú szerepe van a méhek diverzitásának fenntartásában, ezek hiányában a nem specialista pollinátorok sem képesek fenntartani populációikat. Ezeknek a növényfajoknak a méhek biztosítják a generatív szaporodást, ami a genetikai variabilitás fenntartásához, így a populációk fennmaradásához is elengedhetetlen. Botanikai vizsgálataink során figyeltünk fel arra, hogy a kora tavaszi virágzású *Pulsatilla grandis* Wender. virágain az egyes mintaterületeken a megporzó fajok változatossága eltérő. Ezt követően arra a kérdésre kerestük a választ, hogy a *P. grandis* virágai milyen mértékben fontosak a megporzó rovarok számára. Fel kívántuk tájni, hogy a gyepszintben egyidejűleg virágzó fajok milyen mértékben nyújtanak táplálékot a megporzóknak, és milyen mértékben látogatják ezzel párhuzamosan a *Pulsatilla* virágokat. 2020. március 14–29. között, összesen 24 órán keresztül a Veszprém melletti Csatár-hegyen egy virágzó *P. grandis* populációban az összes fullánkös hártvány szárnyú látogatót begyűjtöttük, melyek a vizsgálati terület éppen nyíló virágaira szálltak. A megfigyelés első 6 órájában kizárólag *P. grandis* virágok nyíltak, a további időszakban már minden faj (melyekről eredményeink származnak) virágzott. Vizsgálataink során megállapítottuk, hogy a *P. grandis* viszonylag nagyszámú Aculeata megporzóval rendelkezett addig, amíg a környező gyepszintben a többi növényfaj el nem kezdett virágozni. Ezután viszont a fullánkös hártvány szárnyúak 55,6%-ban a *Potentilla arenaria*, 29,3%-ban a *P. grandis*, 11,1%-ban a *Muscari neglectum*, 3,6%-ban az *Alyssum montanum*, és 0,4%-ban a *Pulsatilla pratensis* subsp. *nigricans* virágait látogatták. Jelentős eltérést tapasztaltunk a *P. grandis* Aculeata viráglátogatóinak viselkedésében az óránkénti átlagos egyedszám tekintetében is. Míg a gyűjtés kezdetén 7,8 egyed gyűjtöttünk óránként, a többi növényfaj virágának megjelenése után ez a szám 1,1 egyedre csökkent. Eredményeink alapján arra következtetünk, hogy az Aculeata pollinátorok virágválasztásában elsősorban a színek játszanak szerepet, ellentétben a virágok nagyságával. A begyűjtött 225 Aculeata egyed 9,3%-a hím volt; fajonként a legtöbb hím látogatóval a *Muscari neglectum* rendelkezett (16%). A hímek sem nektárt, sem pollent nem gyűjtenek, viszont a hímek virágokon való jelenléte bizonyítja a kombinált virágfunkciókat; a virágok menedéket nyújthatnak, párosodás helyszínei is lehetnek, és a rovarok felmelegedhetnek rajtuk. Vizsgálataink alapján a *P. grandis* jelentős nektár-és pollenforrás az Aculeata rovarok számára a kora tavaszi időszakban, amikor a többi vadvirág még nem nyílik. A *P. grandis* populációk visszaszorulása tehát a rovarközösségek szempontjából is aggasztó lehet. A KUTATÁS AZ INNOVÁCIÓS ÉS TECHNOLÓGIAI MINISZTERIUM ÚNKP-19-2 KÓDSZÁMÚ ÚJ NEMZETI KIVÁLÓSÁG PROGRAMJÁNAK SZAKMAI TÁMOGATÁSÁVAL KÉSZÜLT.

Egy új típusú szulfid kinon oxidoreduktáz katalitikus folyamatának vizsgálata

MIKLOVICS Nikolett

Szegedi Tudományegyetem, TTIK Biotechnológiai Tanszék

Biológiatudomány

mmiklovicsnikolett@gmail.com

A szulfid kinon oxidoreduktáz enzimek (Sqr) membrán kötött flavoproteinek, amelyek létfontosságú szerepet töltenek be a szulfid homeosztázis fenntartásában mikroorganizmusokban és magasabbrendű eukarióta szervezetekben. Az élőlények minden csoportjában megtalálhatóak a növényeket kivéve. Az enzim egy két szakaszból álló redox folyamatot katalizál, melynek első szakasza a szulfid oxidáció. Ebben az aktív centrumban elhelyezkedő ciszteinek és feltehetően további konzervált aminosavak játszanak szerepet, amely során a FAD kofaktor redukálódik. Ezt követi a mikrobiális sejtmembránban, illetve a mitokondrium belső membránban található elektron akceptoroként funkcionáló kinon molekulák redukciója, amelyek egy apoláris aminosavak által kialakított szubsztrát kötő zseben keresztül jutnak el az enzim aktív centrumába.

Az Sqr fehérjéknek hat alcsaládjá különböztethető meg szekvencia motívumok és a konzervált aminosavak mintázata alapján. A Gram negatív, anaerob, fotoszintetikus bíbor kénbaktériumok, mint a *Thiocapsa roseopersicina*, egy IV. típusú (SqrD) és egy VI. típusú (SqrF) szulfid kinon oxidoreduktáz enzimmel rendelkeznek. Az SqrF fehérjék konzervált ciszteinjeinek mintázata több ponton eltér a többi Sqr csoportba tartozó enzimétől. Így feltehetően bennük a szulfid oxidáció katalitikus folyamata eltérő módon megy végbe. A ciszteineken kívül több olyan konzervált aminosav is található az Sqr enzimek aktív centruma közelében, amelyek részt vehetnek a katalízis folyamatának egyes lépéseiben.

Kutatásaim célja a *T. roseopersicina* SqrF működési mechanizmusának felderítése az enzim redox folyamataiban és az elektron akceptor kinon szubsztrát kötőhelyének kialakításában szerepet játszó aminosavak azonosításával és funkcionális vizsgálatával. Munkám során vizsgáltam az SqrF fehérjében található ciszteinek, valamint az enzim aktív centrumában elhelyezkedő nagymértékben konzervált glutaminsav katalitikus funkcióját. Vizsgáltam továbbá azoknak a funkcionálisan konzervált apoláris aminosavaknak a szerepét a kevésbé ismert kinon redukciós folyamatban, amelyek szekvencia és szerkezeti összehasonlítások alapján feltehetően biztosítják az apoláris kinon kötő csatorna kialakítását. A vizsgálatokhoz előállítottam a Strep II affinitás peptiddel fuzionáltatott vad típusú és az aminosavak különböző pontmutációit hordozó SqrF enzimváltozatok affinitás kromatográfiával tisztított nagy tisztaságú fehérjemintáit, amelyeket gélelektroforetikus, abszorbancia spektroszkópiái, valamint biokémiai és enzimkinetikai módszerekkel jellemeztem.

Eredményeim alapján felállítottam egy modellt a ciszteinek kofaktor kötésben és katalitikus folyamatban játszott szerepére vonatkozóan. Kimutattam, hogy a 163. pozícióban található glutaminsav kulcsfontosságú szerepet játszik a szulfid oxidáció folyamatában. Továbbá igazoltam a C-terminális doménen található vizsgált apoláris aminosavak részvételét a kinon-enzim kölcsönhatásban. Az eredmények az Sqr fehérjék speciális VI. típusába tartozó enzimek működésének megértésén túlmenően hozzájárulnak minden Sqr enzim katalitikus mechanizmusának teljes megismeréséhez, mely elősegítheti az Sqr enzimek hasznosítását akár a gyógyászatban, akár a környezetvédelemben.

Biológiatudomány II.
2020. október 16. 13.00-15.15
Szekciófelelős:
Pecsis Anett Virág, +36 30 935 1344

A strigolakton és a nitrogén-monoxid közötti jelátvitel hatása *Arabidopsis thaliana* gyökérrendszerére

OLÁH Dóra

Szegedi Tudományegyetem, TTIK, Biológiai Intézet, Növénybiológiai Tanszék

Biológiatudomány, Növénybiológia

olahdora.csorvas@gmail.com

Mind a strigolakton (SL) mind a nitrogén-monoxid (NO) növényi növekedést szabályzó jelmolekula. Molekuláris és farmakológiai eljárásokat alkalmazva vizsgáltuk a két molekula közötti kapcsolat hatását a gyökérrendszer morfológiájára *Arabidopsis thaliana* vad típusában (*Col-0*), S-nitrozoglutation (GSNO) reduktáz-t (GSNOR) túltermelő (*35S::FLAG-GSNOR1*), GSNOR enzimben hiányos (*gsnor1-3*) és SL bioszintézisben (*max1*) valamint jelátvitelben (*max2-1*) hibás 7 napos csíranövényekben.

Kísérleti rendszerünkben stresszmentes körülmények mellett a GSNOR enzimben mutáns vonalak esetében SL analóg (rac)-GR24 (2 μ M) és SL inhibitor TIS108 (5 μ M) kezelést alkalmaztunk, a SL mutáns növényeket NO donorral GSNO (250 μ M) és NO gyökfógóval cPTIO (800 μ M) kezeltük. Vizsgáltuk a növényvonalak főgyökérhosszának változását, az oldalgöyökér kezdemények és a kifejlett oldalgöyökerek számát, sűrűségét. Fluoreszcens festési eljárással detektáltuk a növényvonalakban keletkező NO-t. Az S-nitrozoglutation (SNO) szinteket kemilumineszcenciás eljárással kvantifikáltuk. A GSNOR fehérje mennyiségét a SL hiányos vonalakban Western blot-tal, az enzim aktivitását spektrofotometriás módszerrel határoztuk meg. Kvantitatív Real Time PCR-ral határoztuk meg a GSNOR mutáns vonalakban a SL függő gének (*CCD7*, *CCD8*, *MAX1*, *MAX2*, *D14*), az SL mutánsokban a NO-függő gének (*NIA1*, *NIA2*, *GLB*, *GSNOR1*) expresszióját.

Stresszmentes körülmények között a *gsnor1-3* és *35S::FLAG-GSNOR1* csíranövények főgyökérhossza rövidebb volt a vad típushoz képest, valamint kevesebb oldalgöyökérral rendelkeztek, ami arra utal, hogy nemcsak a GSNOR enzim hiánya, hanem többlete is defektust okoz a gyökérrendszer normális fejlődésében. Az SL hiányos *max* mutánsokban tapasztalt megemelkedett NO és SNO szint a GSNOR fehérje mennyiség és aktivitás csökkenésének a következménye. *Max2-1*-ben enyhe csökkenést kaptunk a NO-függő gének transzkripcionális szabályzásában, ahogy a *CCD7*, *CCD8* és a *MAX1* gének expressziójában a *gsnor1-3* vonalakban is. A GSNOR hiányos növények érzékenységet mutattak a SL analóg kezelésre, ami szintén jelzi, hogy a GSNOR enzim megfelelő aktivitása elengedhetetlen a NO/SNO szint szabályzásában az SL-indukálta gyökér elongáció folyamata során. *Max* mutánsok esetében érzéketlenséget tapasztaltunk GSNO kezelésre, ami alátámasztja, hogy a SL részt vehet a GSNO-szabályozott PIN1-függő auxin eloszlásban és főgyökér rövidülésben.

Az eredmények alapján elmondható, hogy a GSNOR-szabályozott NO/SNO és a SL jelek közötti kapcsolat befolyásolja a gyökérszerkezet kialakulását stresszmentes körülmények között.

A kutatás anyagi háttérét az NKFIH K120383. számú pályázat biztosította. Oláh Dórát az ÚNKP-19-3-SZTE-216 számú pályázata támogatta.

Biológiatudomány II.
2020. október 16. 13.00-15.15
Szekciófelelős:
Pecsis Anett Virág, +36 30 935 1344

A *Drosophila* Mesr4 az ivari őssejt differenciálódás pozitív regulátora

SZARKA-KOVÁCS Alexandra Brigitta
Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Genetikai Intézet
Szegedi Tudományegyetem, Biológia Doktori Iskola
Biológiatudomány
szarka.brigitta@brc.hu

A szöveti homeosztázist az őssejtek szabályozott osztódása és differenciálódása biztosítja. A felnőtt szöveti őssejtek egy speciális mikrokozmoszban, az őssejt niche-ben helyezkednek el. Az őssejt állapot fenntartása és a differenciálódás közti egyensúlyt a sejt-autonóm folyamatok és az őssejt niche-ből jövő jelek együttesen szabályozzák. A *Drosophila* petefészkek anterior végén található őssejt niche-ben a sejtek differenciálódását a TGF- β útvonal szabályozza. Az őssejtek osztódásával létrejövő két utódsejt közül az egyik sejtben az őssejt niche-ből érkező TGF- β megakadályozza a differenciálódást elindító gén, a *bag of marbe* (bam), expresszióját. A másik utódsejt eltávolodik a niche-től, rajta nem érvényesül a TGF- β gátló hatása, a bam kifejeződik benne és elindítja a több lépésből álló differenciálódási folyamatot, mely során cisztoblasztá alakul.

Korábbi kísérletekből ismert, hogy a *Misexpression suppressor of Ras4* (Mesr4) szerepet játszik az ivarvonal őssejtek differenciálódásában. Kimutattuk, hogy Mesr4 hiányos állapotban a petefészkekben elmarad az ivarvonal-őssejtek differenciálódása. A Mesr4-et az ivarsejtek különböző differenciálódási állapotjaiban specifikusan csendesítve megállapítottuk, hogy a Mesr4 sejt-autonóm módon szabályozza a differenciálódást az ivarvonal-őssejtek közvetlen utódaiban. Az őssejt-cisztoblaszt átmenetre jellemző markerek vizsgálatával megmutattuk, hogy a Mesr4 a pre-cisztoblaszt állapotban fejt ki a hatását. A pre-cisztoblasztokon már nem érvényesül a TGF- β gátló hatása, azonban Mesr4 hiányos állapotban mégsem képesek kifejezni bam gént. Jelölt Mesr4 gén segítségével kimutattuk, hogy Mesr4 sejtmagi lokalizációjú. A Mesr4 szerkezetének számítógépes vizsgálata több Zn-finger motívumot és egy phd-finger motívumot tárt fel. Eredményeink azt jelzik, hogy a Mesr4 egy transzkripciós faktor, ami a bam gén kifejeződésének pozitív regulátora. Eredményeink alapján a *Drosophila* nőstény ivarvonalában az őssejtek differenciálódásának elindulásához nem elegendő a differenciálódást gátló jel megszűnése, hanem szükség van egy sejt-autonóm faktor, a Mesr4 működésére is.

Célzott nanorészecskék sejtfelvételének vizsgálata a neurovaszkuláris egység különböző sejtípusain

SZECSKÓ Anikó
Szegedi Biológia Kutatóközpont, Biofizikai Intézet
Biológiatudomány
szecsckoaniko@gmail.com

A központi idegrendszeret érintő betegségeknek (Alzheimer-kór, Parkinson-kór, agytumороk) különösen nehéz a gyógyszeres kezelése, mivel a vér-agy gát jelentősen korlátozza a biofarmakonok bejutását az idegszövetbe. A vér-agy gát anatómiai alapját az agyi hajszálerek endotélsejtjei képezik, amelyek a szomszédos periciták, asztroglia, és idegsejtekkel, valamint a környező mikroglia sejtekkel egy funkcionális egységet, az úgynevezett neurovaszkuláris egységet alakítanak ki. A vér-agy gát védelmi rendszereinek következtében sem a toxikus anyagok, sem a potenciális gyógyszerjelölt molekulák jelentős része nem éri el az idegrendszeri célpontjait.

Az agyi gyógyszerbejutás fokozására innovatív lehetőség a hatóanyagok nanoméretű hordozórendszerekbe csomagolása. A központi idegrendszer sikeres eléréséhez azonban nem elegendő a molekulákat nanorészecskékbe zárni, elengedhetetlen a partikulumok vér-agy gát specifikus célzása. Erre jól alkalmazható stratégia a vér-agy gáton magasan expresszálandó fiziológiás tápanyagszállító fehérjék ligandjainak kihasználása. Csoportunk korábbi munkáiban több ígéretes célzóligandot azonosított és kapcsolt a nanorészecskék felszínéhez. Ezek közül az alanin és glutation kombináció fokozta a legnagyobb mértékben a nanopartikulumok átjutását az agyi endotélsejtek rétegén. A nanorészecskék töltetének azonban nem elég kizárólag az endotélsejteken átjutniuk, el kell érniük a szomszédos pericitákon és asztrogliaikon keresztül a lehetséges terápiás célpontjaikat, az idegsejteket. Ezért célul tűztük ki, hogy megvizsgáljuk a csoportunk által korábban sikeresen alkalmazott targetált vezikuláris nanohordozók sejtfelvételi hatékonyságát és a bejutás lehetséges mechanizmusait a neurovaszkuláris egység többi sejtípusában is.

Kísérleteinkhez nem ionos felületaktív anyagokból és koleszterinből fluoreszcens modellfehérjékkel töltött nioszómákat állítottunk elő. Az alanin és glutation célzóligandokkal jelölt nioszómák nemcsak primer patkány és humán hCMEC/D3 agyi endotélsejtekben, hanem primer pericitákban, asztrogliaiban, differenciált humán SH-SY5Y neuroblasztóma sejtekben is fokozták a töltetük felvételét. A bezárt modellanyagok sejtekbe jutása az összes vizsgált sejtípus esetén hőmérsékletfüggő volt, és csökkent a sejtek metabolizmusát és endocitózist gátló szerek alkalmazása után. Ezzel igazoltuk, hogy a nioszómák sejtfelvétele aktív, energiaigényes folyamatokhoz kötődik. Feltételezzük, hogy a két különböző szállítófehérje egyidejű célzása erősebb dokkoláshoz vezethet a sejtek felszínén, amely elősegítheti a nanorészecskék membránfúzióját és endocitózist. Arra következtethetünk, hogy a neurovaszkuláris egység sejtjein kifejeződő transzporterek ligandjainak kombinációival célzott nioszómáink alkalmasak lehetnek hatóanyagok központi idegrendszeri célpontú bejuttatására.

Kulcsszavak: célzó ligand, nioszóma, neurovaszkuláris egység, sejtfelvételi mechanizmus.

Biológiatudomány II.
2020. október 16. 13.00-15.15
Szekciófelelős:
Pecsis Anett Virág, +36 30 935 1344

A Hsp27 gyulladásban betöltött szerepének vizsgálata primer mikroglia és asztroglia sejttípusokon etanol és gyulladáskeltő citokin kezelést követően

VIGH Judit Piroska

Szegedi Tudományegyetem / Szegedi Biológiai Kutatóközpont

Biológiatudomány

vigh.judit@brc.hu

A tanulmányunk középpontjában álló hősokk fehérje a HSP27/25 (HSPB1) a kis mólsúlyú hősokk fehérjék családjába tartozik. Chaperonként működik; képes más hibás fehérjékhez hozzákötődni és stabilizálni azokat, fenntartja a membrán stabilitást és a citoszkeleton épségét, így fontos a neuroprotektív, apoptózis gátló szerepe. A hősokk fehérjék extracelluláris térbe való kikerülését követően immunmoduláló hatással bírnak, kiválthatják mind a gyulladáskeltő, mind a gyulladásgátló citokinek felszabadulását, ezáltal részt vesznek a gyulladással kapcsolatos szabályozásában.

Az etanol mint lipidoldékony anyag átjut a vér-agy gáton, így kiválthat idegrendszeri károsító hatást is. A magzati alkohol szindróma kiváltója az anya terhesség alatti alkohol fogyasztása, amely a magzat idegrendszeri elváltozását okozhatja. Ezt modellezve kollaborációs partnereink, az SZBK Állatgenetikai és Molekuláris Neurobiológiai Csoport tagjai korábbi *in vivo* kísérleteikben kimutatták, hogy mind akut, mind krónikus etanol kezelést követően a Hsp27 jelenléte védő hatású a humán Hsp27 hősokkfehérjét túltermelő transzgenikus egértörzsben. A hősokk fehérje szabályozza a gyulladáskeltő citokinek expresszióját, a gliasejt aktivációt és a sejtszintű apoptózist *in vivo*. Az asztroglia sejtek mellett a mikroglia sejtek is fontos immunológiai szerepet látnak el az agyban, ezért feltételezzük, hogy az elhúzó etanol kezelést követően szerepet játszanak a sejtek túlélésében.

Munkánk során célul tűztük ki, hogy megvizsgáljuk a Hsp27 szerepét primer egér mikroglia és asztroglia sejtekben, így azonosítva az *in vivo* megfigyelésekért felelős sejttípusokat. Kísérleteinkben először sejteket izoláltunk a korábban létrehozott humán Hsp27 fehérjét túltermelő egér törzsből, amihez szükség volt a mikroglia izolálás optimalizálására. Ezt követően az akut gyulladás modellezéséhez 24 órás kezelést végeztünk humán rekombináns IL-1 β , TNF- α citokin kombinációjával és 50 mM etanollal mindkét sejttípuson. Megvizsgáltuk az asztroglia sejtek életképességét valós idejű sejtanalízis módszerével, morfológiai vizsgálatokat végeztünk immunhisztokémiai festésekkel és felülűszót gyűjtöttünk a kezeléseket követően, hogy megvizsgáljuk a felszabadult TNF- α mennyiségét.

Eredményeink megmutatták, hogy etanol és citokin kezelést követően szignifikáns csökkenés volt kimutatható az asztroglia sejtek életképességében. GFAP, Iba1 és Hsp27 festéseket követően morfológiai változásokat figyeltünk meg mindkét sejttípusban. A felülűszóból TNF- α felszabadulást szintén mindkét sejttípusból ki tudtunk mérni, de a mikroglia sejteknél nagyobb mértékben. Ez arra utal, hogy a mikroglia sejtek az elsődleges válaszadók. Illetve a citokin kezelés után a transzgenikus mikroglia esetében szignifikánsan több TNF- α felszabadulás volt megfigyelhető, mint a vad típus esetében.

Eredményeink közelebb visznek a Hsp27 hősokk fehérje neuroprotektív szerepének megértéséhez. Későbbiekben ezek a fehérjék jó célpontjai lehetnek gyulladáskeltő és gyulladásgátló folyamatok szabályozásában.

Biológiatudomány II.
2020. október 16. 13.00-15.15
Szekciófelelős:
Pecsis Anett Virág, +36 30 935 1344

A PP4 foszfatáz szubsztrátum-felismerő mechanizmusainak vizsgálata

RÉTHI-NAGY Zsuzsánna

Képzőintézmény/munkahely Szegedi Tudományegyetem Biológia Doktori Iskola, Szegedi
Biológia Kutatóközpont Biokémia Intézet

Tudományterület Biológiatudomány

nzsuzsanna18@gmail.com

A fehérje foszforilációs-defoszforilációs folyamatok szigorúan szabályozottak a sejtben és dinamikus egyensúlyban állnak egymással. A fehérjék foszforilációját a kinázok katalizálják, a reakció során a foszfát csoport a megfelelő aminosavra kerül, az antagonisztikus reakció során a foszfát csoportot a foszfatázok távolítják el. A foszforilációs állapot változása számos következményekkel járhat megváltoztatja a fehérje fizikokémiai tulajdonságait, féléletidejét és aktivitását, befolyásolja a stabilitását, valamint interakciós partnereit. A fehérje foszfoprotein foszfatázok (PPP) családjába tartozó PP4 foszfatáz a legtöbb szövettípusban kifejeződik, expressziós mintázata változik a fejlődési stádiumokban, ezért feltételezhetően fontos szerepe van az egyedfejlődés szabályozásában. A PP4 kettő vagy három alegységből álló holoenzimet alkot. A katalitikus alegység mellett (PP4c) dimert alkothat egy PP4R1 vagy egy PP4R4 regulátor alegységgel, komplexet alkothat egy PP4R2-vel, ami majd heterotrimert hoz létre egy PP4R3A-val vagy egy PP4R3B-vel. Az R3 alegység erős konzerváltságot mutat élesztőtől az emberig, *Drosophila melanogaster*-ben a *falafel* gén kódolja (Falafel, Flfl) és egy példányban van jelen. Munkám során Falafel regulátor alegységében található SMK1/DUF625 (domain of unknown function 625) domén szubsztrátum-kötő funkciójának igazolása és mechanizmusának meghatározása volt a célom. A domén nagymértékű konzerváltságából kiindulva úgy véltük, hogy az EVH1 domén mellett az SMK1/DUF625 is szerepe van a szubsztrátum felismerésben. Elsőként olyan fehérjéket azonosítunk, amelyek interakcióba lépnek az SMK1 doménnal, majd azon fehérjék estében, ahol direkt kötés jön létre a kötési felületet leszűkítjük egy minimális szakaszra. Az ilyen szakaszokban SMK1-sepcifikus konzervált kötési motívum(ok) (SLiM(ek)) azonosítunk peptide-array-el és egyéb újgenerációs módszerek alkalmazásával. A motívum ismertetében további lehetséges interakciós partnert keresni és kapcsolatukat a Falafel alegységgel vizsgálni sejtbiológiai módszerekkel.

Biológiatudomány II.
2020. október 16. 13.00-15.15
Szekciófelelős:
Pecsis Anett Virág, +36 30 935 1344

Kisméretű szekretált fehérjék (SSP) és újonnan annotált receptorok szerepének vizsgálata a termőtestképző gombák morfogenezisében és a soksejtűség kialakulásának szabályozásában

FÖLDI Csenge, NAGY László, GALGÓCZY László, MERÉNYI Zsolt

Szegedi Biológiai Kutatóintézet, 6726 Szeged, Temesvári krt. 62.; Tudományterület

Biológiatudomány

foldi.csenge@brc.hu

A gombák kivételével a soksejtű élőlények törzsejlődésével párhuzamosan általánosan megfigyelhető a receptor-kódoló gének számának jelentős növekedése, kiváltképp igaz ez a G-fehérje kapcsolt receptorokra (GPCR). A GPCR-ek sejtfelszíni, hét transzmembrán doménnel (7TM) rendelkező receptorok, melyek különösen fontos szerepet töltenek be a környezeti faktorok érzékelésében és a sejtek közti kommunikációban.

Genomannotációs eredményeink alapján azt találtuk, hogy a kanonikus GPCR-ek száma meglepően alacsony a komplex soksejtű gombákban (2-70, átlagosan 14,7), míg a prediktált 7TM (p7TM) receptor-kódoló gének száma kiemelkedően magas (2-539, átlagosan 85). Mindezek alapján feltételezzük, hogy ezeknek az újonnan azonosított p7TM receptoroknak szerepe lehet a gombák fejlődésében, beleértve a soksejtűség kialakulását. A GPCR-ek ligandjai gyakran polipeptidek, mint amilyenek az élesztő alfa-faktora, ami a Ste18 feromon-érzékelő GPCR ligandja. Az alfa-faktorhoz hasonló kis szekretált fehérjék (SSP) különösen nagy diverzitást mutatnak gombákban, funkciójuk meghatározása intenzív kutatások tárgya. Több kutatás is rávilágított az SSP-k morfogenezisben és soksejtűség kialakításában betöltött lehetséges szerepére. Az SSP-eket elsősorban a mikorrhizaképzés és növényi kórokozás effektoraként írták le növény-gomba interakciók vizsgálata során. Kutatócsoportunk előzetes eredménye és publikált indirekt bizonyítékok alapján feltételezzük, hogy gombáknál a sejtek közti kommunikációban és soksejtű fejlődésben nagy szerepet játszik az SSP-k gazdag repertoárja. Komparatív genomikai analízis során 443 gomba proteomot összehasonlítva azt tapasztaltuk, hogy a prediktált 7TM receptorok száma korrelációt mutat (Pearson: 0,7) annotálatlan, kisméretű szekretált fehérjék (SSP) számával. Mindezek alapján feltételezhető, hogy a prediktált 7TM receptorok ligandjaiul az SSP-k szolgálhatnak. Az SSP-k 300 aminosavnál kisebb méretű, szignálszekvenciával rendelkező polipeptidek. Az expressziós szintjük nagy változásokat mutat a gomba egyedfejlődése közben, ami alapján feltételezhető, hogy fontos szerepük van a komplexebb struktúrák létrejöttében.

Feltevésünk tesztelésére a *Coprinopsis cinerea* tintagombát választottuk modellorganizmusnak. Célul tűztük ki, hogy kiderítsük, vajon a *C. cinerea*-ban talált 196 prediktált 7TM receptorok valódi GPCR-k, interakcióba lépnek-e a G-fehérjékkel, milyen szerepük van a gombák egyedfejlődésében és targetreceptorai-e azon annotálatlan kis szekretált fehérjéknek, melyek száma korrelációt mutat a p7TM fehérjékével. A várt eredmények segítenének feltérképezni új, eddig ismeretlen jelátviteli útvonalakat gombákban, melyek feltehetően nagy szerepet játszanak a komplex soksejtűség kialakulásában.

A kutatás az ÚNKP-19-3-SZTE-79 számú pályázat támogatásával valósul meg.