

**Szakedolgozat, Diplomamunka, Egyéni feladat, Szakmai gyakorlat, TDK témák
DNS- hibajavítás és nukleotid anyagcsere kutatások új rákellenes és fertőző
mikrobák elleni terápiák fejlesztésére**

**Vértessy csoport
(saját honlap: www.biostruct.org)**

**Csoportvezető: Vértessy G. Beáta, MTA Doktora, tanszékvezető egyetemi
tanár**

Témáink közös nevezője a rákellenes terápiákban és a fertőző mikroorganizmusok elleni küzdelemben kiemelkedő jelentőségű DNS metabolizmus, DNS-hibajavítás, és a nukleotid anyagcserében kulcsfontosságú enzimatis átalakítások vizsgálata. A részletes témákról bőszeges információ található honlapunkon (www.biostruct.org), valamint az onnan elérhető korábbi TDK, BSc, MSc és PhD disszertációkban, és tudományos közleményeinkben (lásd: Google Scholar, Beáta G. Vértessy). Ezen oldalakon megtalálható néhány érdemi sikerességi mutató is.

Minden hallgató esetében a konkrét témát személyes beszélgetésben alakítjuk ki. Ilyen témák lehetnek például a következők:

Enzimatis reakciómechanizmus vizsgálata

dUTPáz enzim mutánsok előálltása és vizsgálata

A DNS-beli uracil szintjének meghatározása, új módszerek fejlesztése

Humán tumor sejtvonalak DNS javító útvonalainak vizsgálata

A TBC kórokozó Mycobacterium elleni új célpontok azonosítása

Staphylococcus aureus DNS metabolizmusa

A malária kórokozó Plasmodium falciparum lipid és nukleotid anyagcsere útvonalainak vizsgálata

Fehérjekrisztallográfia

Mit nyújtunk a velünk dolgozó hallgatóknak?

- Részvétel nemzetközileg kiemelkedő kutatásokban (PubMed-en érdemes a cikkeinket megnézni)
- Sok kurrens technika elsajátítása: a szerkezeti biológia, molekuláris biológia, sejtbiológia, bioinformatika és enzimológia területein
- Gyakran kiemelkedő TDK szereplés
- Belépő a tudományos életbe, esetleg a későbbiekben sikeres PhD.

Mit várunk el a jelentkező hallgatótól?

Olyan diákokat várunk (egyéni feladat, szakmai gyakorlat, TDK, szakedolgozat, diplomamunka, esetleg később PhD képzés) kapcsán:

- akik megfelelő szintű ismeretekkel rendelkeznek az eddigi tanulmányaik alapján,
- akik képesek egy laborban nagyon odafigyelve, irányítás mellett, de sokban önállóan dolgozni, és
- akikben megvan bennük a kutatómunka iránti érdeklődés.

Mindhárom felsorolt kritérium lényegi, de a kutatás iránti makacs és a problémákat is vállaló érdeklődés abszolút elsődleges.

Jelentkezés: Vértessy G. Beáta email címén: vertessy@mail.bme.hu, önéletrajzzal és motivációs levéllel.

Biotechnológiai projektgyakorlat II. (BMEVEMBM120) témakiírások

Fehérjék izolálása és biofizikai vizsgálata

Témavezető: Dr. Nyíri Kinga (nyiri.kinga@vbk.bme.hu)

Bakteriális rendszerben termeltetett fehérjék affinitás kromatográfiás módszerekkel történő izolálása és a kapott fehérjék biofizikai vizsgálata.

Fehérjetermelés hidegsokk expressziós rendszerben

Témavezető: Dr. Nyíri Kinga (nyiri.kinga@vbk.bme.hu)

A hidegsokk expressziós rendszer kitermelésének összevetése a laboratóriumban használt egyéb expressziós módszerekkel kapott eredményekkel. A laboratóriumban gyakran termelt fehérjék klónozása hidegsokk expresszióra alkalmas vektorba és fehérjék termelése.

Glükózaminoglikán bioszintézis enzimek biokémiai és szerkezeti vizsgálata

Témavezető: Dr Nagy Gergely Nándor (nagy.gergely.nandor@vbk.bme.hu)

A glükózaminoglikánok (GAG) az extracelluláris mátrix meghatározó komponensei, melyek bioszintézisét az ezért felelős enzimek különleges módon templát nélkül végzik. Egyes GAG bioszintézis enzimek működésének megértéséhez azok biokémiai és szerkezeti vizsgálatát tervezzük. A kutatómunka az alábbi módszereken alapul: molekuláris klónozás, rekombináns fehérje expresszió *E. coli* gazdaszervezetben, fehérje tisztítás (affinitás kromatográfia, ioncsere kromatográfia, géliszűrés), enzim aktivitás mérés, szubsztrát kötődés vizsgálat, hőstabilitás vizsgálat, fehérje kristályosítás. Az elvégzendő munka helyszíne a TTK Enzimológiai Intézete.

Feltételezett citidin dezamináz enzim biokémiai és szerkezeti vizsgálata

Témavezető: Dr Nagy Gergely Nándor (nagy.gergely.nandor@vbk.bme.hu)

A malária kórokozó *Plasmodium falciparum* DNS hibajavítási működésének jobb megértéséhez egy feltételezett citidin deamináz enzimének szerkezetét és funkcionális vizsgálatát tervezzük. A kutatómunkasorán az alábbi módszereken alapul: molekuláris klónozás, rekombináns fehérje expresszió *E. coli* gazdaszervezetben, fehérje tisztítás (affinitás kromatográfia, ioncsere kromatográfia, géliszűrés), enzim aktivitás mérés, szubsztrát kötődés vizsgálat, hőstabilitás vizsgálat, fehérje kristályosítás. Az elvégzendő munka helyszíne a TTK Enzimológiai Intézete.

Drogkezelt rákos sejtvonalakban indukálódó DNS citozin dezaminázok fehérje szinten történő kimutatása Western bloton illetve sejtbeli immunfestés alkalmazásával.

Témavezetők: Dr. Békési Angéla (bekesi.angela@vbk.bme.hu) és Holub Eszter (holub.eszter@gmail.com)

Nemrégiben azt találtuk, hogy DNS-javításban gátolt vastagbélrák sejtvonalon bizonyos, kemoterápiában széles körben alkalmazott timidilát szintáz (TS) inhibitorok hatására a genomi C_àT mutációs változások gyakorisága megnő. Ehhez kapcsolódóan kimutattuk, hogy a drogkezelés hatására mRNS szinten indukálódnak APOBEC3 enzimek, melyek a DNS-beli citozinok dezaminációja révén felelősek lehetnek a detektált C_àT mutációs növekedésért. Az mRNS szintű kifejeződési változásokkal azonban nem tudjuk teljesen megmagyarázni a különböző TS inhibitorok esetén tapasztalt eltérő mutagenicitást. Ezért szeretnénk megvizsgálni egyes APOBEC3 enzimeket fehérje szinten is, amihez Western blot és immunfestési eljárásokat fogunk alkalmazni. A hallgató továbbá megtanulja az eukarióta sejttenyésztés technikáit is.

HCT116 rákos sejtvonalak életképesség változása timidilát szintáz inhibitorokkal, ill. nukleotid pótlással való kombinált kezelés során

Témavezetők: Holub Eszter (holub.eszter@gmail.com) és Dr. Békési Angéla (bekesi.angela@vbk.bme.hu)

Előzőleg azt találtuk, hogy két, a rákterápiában elterjedten használt timidilát szintáz (TS) inhibitor eltérő citotoxicitási profilt mutat DNS javításban részben gátolt vastagbélrák sejtvonalon tesztelve. A nukleotid analóg 5FdUR szer nagyobb dózisban kevésbé hatékony, mint ugyanazon szer kisebb, vagy az RTX (a másik tesztelt TS inhibitor) bármilyen dózisban. Ez az átmenetileg jelentkező citotoxicitás csökkenés kapcsolatban lehet a klinikai gyakorlatban is jelentkező rezisztencia megjelenésével, amiért hasznos volna megérteni a jelenség molekuláris

hátterét. Ehhez a gyakorlat során életképességi (citotoxicitási) méréseket fogunk végezni a szerek, ill. további kiegészítő kezelések kombinált hatásait tesztelendő. Továbbá a jelenséget megvizsgáljuk eltérő DNS-javítási kapacitású sejtvonalak esetén is. A hallgató gyakorlatot szerez az eukarióta sejtkultúrák fenntartásában, és a CCK8 (Doinjo) illetve szükség szerint más citotoxicitási tesztek alkalmazásában. Továbbá betekintést kap a nukleotid metabolizmus célpontú rákterápiás eljárások elméleti hátterébe is.

Potenciális fehérje-fehérje kölcsönhatások vizsgálata különböző *in vitro* és *in vivo* módszerekkel Mycobacteriumban

Témavezető: Dr. Hirmondo Rita (hirmondo.rita@ttk.mta.hu)

Lehetséges fehérje kölcsönhatások vizsgálata különböző *in vitro* módszerekkel.

Opindehidrogenáz enzimek tisztítása és vizsgálata

Témavezető: Telek András (telek.andras@edu.bme.hu)

A hallgató feladata különböző, biokatalitikus konverziókra alkalmas opindehidrogenáz enzimek fém-affinitáskromatográfiás tisztítása sejtpelletből. A projektfeladat során sor kerül a tisztítási módszer optimalizálására, a tisztított fehérjék karakterizálására, valamint a tiszta fehérjék első kristályosítási kísérleteire.

Genomi uracilszint perturbálása és vizsgálata inaktív dUTPáz enzimet kifejező MEF sejtvonalon.

Témavezető: Nagy Nikolett (nagy.nikolett@ttk.hu) és Tóth Otília (toth.otilia@edu.bme.hu)

Korábban létrehoztunk CRISPR bázisszerkesztéssel olyan MEF sejtvonalat, melyben a dUTPáz fehérje katalitikusan inaktív. Ennek következtében a genomi uracilszint nagymértékben megemelkedett és a sejtekben genomi instabilitást tapasztaltunk. Annak kiderítésére, hogy az enzimaktivitás hiánya vagy a magas uracilszint okoz-e ilyen változást, célunk a sejtek vizsgálata alacsony, illetve magas genomi uracilszint esetén. A hallgató gyakorlatot szerez az eukarióta sejtkultúrák fenntartásában, áramlási citometriai analízisben és az uracilszint meghatározására alkalmas dot blot mérés elvégzésében.

Génexpresszió vizsgálata qPCR-rel zebrahál embriókban

Témavezető: Perey-Simon Viktória Berta (perey-simonv@edu.bme.hu)

Enzimek génexpresszióinak vizsgálata zebrahál embriók különböző fejlődési stádiumaiban. A projektfeladat magába foglalja az RNS izolálást, a reverztranszkripciót és a qPCR mérések elvégzését.