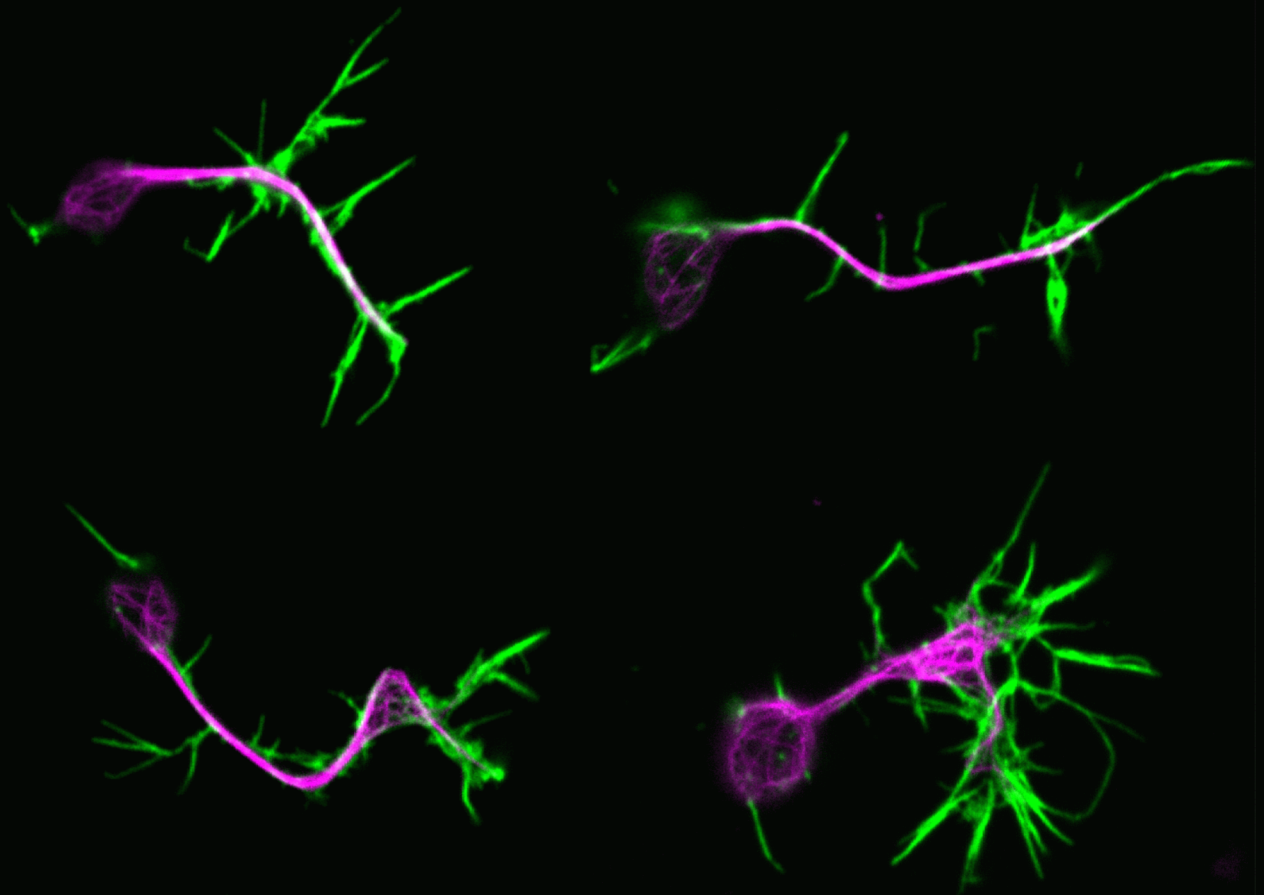


# BIOKÉMIA

A Magyar Biokémiai Egyesület internetes folyóirata

XLIII. évfolyam 2. szám

2019. június



# BIOKÉMIA

A Magyar Biokémiai Egyesület internetes folyóirata

Szerkesztőbizottság:

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

Főszerkesztő:

**Szúcs Mária**

szucs.maria@brc.mta.hu

Technikai szerkesztő:

**Bérdi Péter**

info@remekdesign.hu

**XLIII. ÉVFOLYAM 2. SZÁM**

**2019. június**

## TARTALOMJEGYZÉK

*Címlapkép: Drosophila embrionális primer idegsejtek aktin (zöld) és mikrotubulus (magenta) sejtváza (lásd Mihály József írását, 26. oldal).*

### **AKIKRE BÜSZKÉK VAGYUNK**

Kitüntetések, díjak ..... 3.

### **TUDOMÁNYOS CIKK**

Györkei Ádám, Szatmári Orsolya, Villányi Zoltán: A génkifejeződés  
körkörös szabályozásától, fázisátmeneten keresztül, a genotoxikus  
hatások elleni védelemig ..... 4.

### **HAZAI Tudományos Műhelyek**

Mihály József: A sejtváza szabályozás és a miofibrillogenezis vizsgálata az  
MTA SZBK Genetikai Intézetében ..... 26.

### **VISSZATEKINTÉS AZ ELMÚLT 50 ÉV KIEMELKEDŐ CIKKEIRE**

Sarkadi Balázs: A Spät-Gárdos-Tosteson iskola tanulságai ..... 36.

### **KONFERENCIA BESZÁMOLÓK**

Molekuláris Élettudományi Konferencia 2019, Eger ..... 44.

Peptidkémiai Munkabizottság 2019. évi tudományos ülése,  
Balatonszemes ..... 51.

### **NEKROLÓG**

Búcsúzzunk Medzihradszky Kálmán professzortól ..... 53.

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 GÉNKIFEJEZŐDÉS KÖRKÖRÖS SZABÁLYOZÁSÁTÓL, FÁZISÁTMENETEN KERESZTÜL, A GENOTOXIKUS HATÁSOK ELLENI VÉDELEMIG

**Györkei Ádám<sup>1</sup>, Szatmári Orsolya<sup>2</sup>, Villányi Zoltán<sup>2</sup>**

**<sup>1</sup>MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biokémiai Intézet,**

**<sup>2</sup>SZTE TTIK, Biokémia és Molekuláris Biológia Tanszék**

### **Összefoglalás**

A gének kifejeződés különböző szintjeinek működését egy sok fehérjét magába foglaló masinéria hangolja össze. Tagjai több gének kifejeződési szint szabályozásában is részt vesznek, ami megnehezíti sokoldalú szerepük megismerését. A szakirodalom sok esetben éveken át kizárólag az egyes szabályozó fehérjék elsőként felfedezett funkciójára összpontosít. Így volt ez a Ccr4-Not komplex esetében is, amely az mRNS lebontásában betöltött szerepe miatt, mint az eukarióták legfőbb deadeniláza volt ismert. Cikkünkben áttekintést adunk az utóbbi öt év Ccr4-Not komplexszel kapcsolatos felfedezéseiről. Bemutatjuk, hogy az eukarióták legfőbb deadeniláza a translációban és a fehérjekomplexek összeszerelésében is kulcsszereplő. Ezek az új felfedezések önmagukon túlmutatva a gének kifejeződés körkörös szabályozásának középpontjába helyezik a translációt és a kotranszlációs összeszerelési folyamatokat. Ebből kifolyólag itt vetjük fel először egy fázisátmeneten alapuló, fehérjekomplex-összeszerelődést szabályozó génexpressziós lépés létezését, amelynek jelentősége sejtünk szerint a gyors stresszválaszban rejlik. Élesztősejtek növekedésén mutatjuk be, hogy a fehérjék fázisszeparációját gátló 1,6-hexándiol ismételt UV kezelés hatására toxikus hatású, ha a sejtekben nem engedjük működni a fény által indukálódó DNS hibajavító mechanizmusokat. Kitekintésünk egy fehérjekomplex-alegységek fázisátmenetén alapuló molekuláris memória felfedezésével kecsegtet, amely különösen jelentős lehet a DNS károsító hatások elleni védekezésben, ugyanis a transzkripciótól kezdett stresszválasz, nyilvánvaló okból kifolyólag, nem biztosíthat megnyugtató védelmet a sejt számára.

## Bevezetés

A molekuláris biológia centrális dogmája évtizedek óta meghatározza azt, ahogyan a génkifejeződésről gondolkodunk. Az eukariótákban ez a folyamat a sejtmagban kezdődik a gének bekapcsolásával és a transzkripció inicializációjával, majd a citoplazmában ér véget az érett fehérjék, összeszerelt komplexek elkészültével. A folyamat, amelynek főbb lépései a transzkripció, az mRNS érés, a sejtmagi mRNS export, az mRNS szállítása és raktározása, a transláció és a fehérjék transláció utáni érése és bomlása, lelki szemeink előtt láncolatként, lineárisan jelenik meg. A tudomány, a centrális dogma alapján, a génkifejeződés különböző lépéseit és ezek szabályozását először a rendszer összefüggéseitől megfosztva, élő kontextusukból kiragadva, külön-külön írta le. A génkifejeződés különböző szintjein lévő folyamatok kölcsönhatása, a köztük fellépő visszacsatolási mechanizmusok vizsgálata csak napjainkban került előtérbe.

A transláció közvetlen szabályozó hatása a transzkripcióra már régóta bizonyított. Klasszikus példa a prokariótákban 1981-ben felfedezett attenuáció folyamata [1]. *Escherichia coli*-ban a triptofán szintézisében szerepet játszó gének policisztronos RNS-en kódoltak. Kifejeződésük szabályozása a transláció és a transzkripció közvetlen fizikai kölcsönhatásán alapszik. Mivel a prokariótáknak nincs elkülönült sejtmagjuk, bennük a transzkripció és a transláció egyidejűleg zajlik. Ha van elegendő triptofán a sejtekben, a triptofán aminosav szintézisében szerepet játszó gének előtt elhelyezkedő, triptofán kodonokat tartalmazó, attenuátor régió translációja gyorsan halad, és az átírt mRNS belső bázispárosodással olyan hurok-konformációt vesz fel, amely transzkripció terminációt okoz, így a megtermelt mRNS végül leszorítja magát az RNS polimerázt a DNS-ről. Alacsony triptofán koncentráció esetén azonban a riboszómák lassan haladnak az attenuátor régió, ekkor a naszcens mRNS másodlagos szerkezete megváltozik. Az RNS polimeráz messze megelőzi a riboszómákat az attenuátor átírása után. Ekkor közvetlenül az attenuátor régió után átírt mRNS belső bázispárosodásával kialakul egy alternatív



hurokstruktúra, mely megakadályozza a transzkripció terminációját, a polimeráz pedig tovább folytathatja a triptofán szintéziséhez szükséges fehérjéket kódoló policisztronos mRNS átírását.

Mivel az eukariótákban a transzkripció a sejtmagban, a transzláció pedig a citoplazmában, egymástól térben elválasztva zajlik, így hasonló egyszerű szabályozás a valódi sejtmagvas élőlényekben nem lehetséges. A transzkripció és a transzláció áttételesen azonban az eukariótákban is állhat fizikai kapcsolatban egymással. 2011-ben a *Cell* folyóiratban jelent meg az a munka [2], amely az RNS polimeráz II Rpb4/Rpb7 (*RNA polymerase B 4 és 7*) dimerről mutatta be, hogy a transzkripció befejeztével leválhat a polimerázzal, és bizonyos mRNS-ekhez kötődve segítheti azok transzlációját és degradációját a citoplazmában. Az Rpb4 citoplazmatikus szerepe néhány éve azonban vitatottá vált. Egy későbbi közlemény szerint az Rpb4 és az Rpb2 fúziós fehérje is képes menekíteni az Rpb4 mutánsban tapasztalható változásokat mind az mRNS szintézis, mind a transzláció és a degradáció szintjén [3] annak ellenére, hogy az ilyen fúziós fehérjével menekített mutánsban az Rpb4 fehérje elvileg nem tud leválni a polimeráz II holoenzim komplexről. Korábbi kutatásaink alapján ez az ellentmondás feloldható, amelyre a következő fejezetben térünk ki.

A transzkripció és az mRNS lebontás kapcsolatára szintén csak az utóbbi évtizedben derült fény [4]. Ha a transzkripció lelassul, az mRNS degradáció mértéke is lecsökken, míg a transzkripció gyorsulása a degradáció fokozódásával párosul. A jelenséget génexpressziós pufferhatásnak nevezzük. Ez biztosítja azt, hogy a sejtekben lévő összes mRNS mennyiség mindig állandó maradjon. Azonban a transzkripciós pufferhatás mechanizmusáról még viszonylag keveset tudunk. Azt viszonylag könnyű belátni, hogy a transzkripció során az mRNS-ekhez olyan egyéb fehérjék kötődnek (imprintálódhatnak), amelyek később hatással lehetnek az érett mRNS-ek degradációjára. Azt azonban már nehezebb elképzelni, hogyan működhet a fordított irányú hatás. Hogyan hathat vissza az mRNS degradáció a transzkripció mértékére? A Cramer

laboratórium élesztőben szisztematikusan megvizsgálta az mRNS degradációban szerepet játszó ismert szereplők kiiktatásának transzkripcióra gyakorolt hatását. Eredményeik azt mutatták, hogy az Xrn1 (*eXoribonuclease 1*) mutánsokban az mRNS degradáció mértéke lecsökken, de azt nem követi a transzkripció ráta csökkenése olyan mértékben, ahogyan azt a többi vizsgált mRNS degradációjában szerepet játszó fehérje mutációja esetén látták [5]. Mivel azt találták, hogy az Xrn1 nem keresztköthető a kromatinhoz, feltételezték, hogy hatását a transzkripcióra nem közvetlenül fejtí ki. Ezzel összecseng, hogy egy globális transzkripció represszor, az Nrg1 (*Negative regulator of glucose-repressed genes 1*) expressziója megemelkedik *xrn1Δ* mutánsokban, és ez igaz két Ccr4-Not komplex mutánsra is: *ccr4Δ* (*Carbon catabolite repression 4*) és a *caf1Δ* (*Ccr4 associated factor*) sejtekre, felfedve a transzkripció és az mRNS degradáció közötti szabályozás további szereplőit.

Mindezen eredmények egy komplex génexpressziót szabályozó rendszer jelenlétére utalnak. A legújabb eredmények alapján úgy tűnik, hogy a transzkripció, a transláció és az mRNS degradáció összehangolását egy számos fehérjét és együttműködő komplexet magába foglaló masinéria tartja ellenőrzése alatt. Ennek a masinériának egyik, vizsgálatunk célkeresztjébe került képviselője a minden eukarióta sejtben megtalálható Ccr4-Not komplex.

### **Ccr4-Not komplex a génexpressziós puffereles kulcsszereplője**

A Ccr4-Not komplex az eukarióta sejtek legfőbb deadeniláza [6,7]. A komplex legfontosabb funkciójának sokáig az mRNS-ek lebontását tartották, annak ellenére, hogy a komplex Not fehérjéit a transzkripcióra gyakorolt negatív hatásuk alapján fedezték fel [8-10]. Innen ered a nevük is: *negative on TATA less* ered jelezve, hogy ezek a fehérjék a TATA box nélküli gének transzkripcióját gátolják. Kutatócsoportunk svájci együttműködő partnereinkkel közösen fényt derített arra, hogy a Ccr4-Not komplex a transzkripció és a transláció folyamatának összehangolásában is szerepet játszik, többek között azáltal, hogy részt vesz az mRNS polimeráz II és a SAGA transzkripció komplex

kotranszlációs összeszerelésében [11,12].

A 12 alegységből álló RNS polimeráz II összeszerelődése során kimutattuk, hogy annak több alegysége, köztük az Rpb2, nagy mennyiségben megtalálható a translációt végző riboszómákon [11]. A jelenség magyarázata az RNS polimeráz II kotranszlációs összeszerelődése. Transzkripciós blokk esetén a polimeráz II alegységeire bomlik, a disszociált alegységek eltávoznak a magból, majd a citoplazmában újra összeszerelődnek [13, 14]. A folyamat során az Rpb1 alegység általában teljesen lebomlik, a riboszómákon új Rpb1 fehérje íródik, amely azután a többi alegységgel kotranszlációsan szerelődik össze [11]. Az Rpb2-Rpb4 fúziós fehérje, habár ebben a formában nem képes disszociálódni a polimeráz holoenzim komplexről [3], mégis transzkripciós blokk esetén jelen lehet a sejtmagon kívül is. Sőt, amennyiben az Rpb4 mRNS-hez való kötődésében egyéb fehérjék is szerepet játszanak, azok az Rpb2-höz fuzionált formában, a citoplazmában ugyanúgy a szabályozott érett mRNS-ekhez toborozhatják az Rpb4-et, így az Rpb2-Rpb4 fúziós fehérje is képes lehet menekíteni az Rpb4 hiányát. Mivel a Ccr4-Not komplex kölcsönhat az Rpb4-gyel [11], hozzá hasonlóan a sejtmagban és a citoplazmában is jelen van, ezért jó jelölt arra nézve, hogy az Rpb4 citoplazmatikus funkcióiban közrejátszson. Ezt a lehetőséget két további megfigyelés is valószínűsíti. Először is a Ccr4-Not komplex Not1 alegységéről kiderült, hogy eddig nem ismert módon szintén képes az általa kötött mRNS-ek translációjának elősegítésére [15], a szerzők szerint ráadásul az Rpb4-által regulált mRNS-ek és a Not1-hez kötődő mRNS-ek között meglepően nagy az átfedés [15, 16]. Másodsorban pedig a Ccr4-Not komplex Not5 alegységének hiányában az Rpb4 stresszhatásra sem képes kilépni a sejtmagból [11]. A kutatásokból kiderült az is, hogy transzkripciós stressz során a Not1 a riboszómális fehérjéket kódoló mRNS-ekhez kötődik, fokozva translációjukat, így az átíródás hatékonyságának növelésével ellensúlyozza a lelassult transzkripció génkifejeződésre irányuló negatív hatását [15].

A *Ccr4-Not* komplexszel együtt izolálható az mRNS polimeráz II és a SAGA komplexeken kívül sok egyéb fehérjekomplex mRNS-e is [15], melyből arra következtethetünk, hogy a *Ccr4-Not* komplex általános szerepe a sztöchiometrikus arányban kifejeződő fehérjék expressziójának szabályozása. Hipotézisünk szerint ez a komplex biztosítja, hogy a fehérjekomplexek alegységeiből mindig azonos mennyiségű teljes hosszúságú fehérje íródjon át. Ezáltal az összeszereléshez szükséges aktív chaperon fehérjék felhasználása sokkal gazdaságosabbá válik, mivel a komplex alkotók egyidejű sztöchiometrikus átíródása feleslegessé teszi a szabad monomerek megkötését. A *Ccr4-Not* komplex a ma ismert legjobb jelölt arra, hogy ezt a sokszintű génexpressziót pufferelő folyamatot koordinálja, hiszen jelentőségét a transzkripció elongációban, a translációban, valamint az mRNS lebontásban számos közleményben bemutatták már [17-19]. A vizsgálatok folytatását az is indokolja, hogy kutatásaink során a *Not1* génexpressziót pufferelő hatását a transzkripció és a transláció összehangolásában, a riboszómális fehérjéket kódoló gének esetében már sikeresen bizonyítottuk [15].

### **A Not1 szerepe a proteaszóma összeszerelődésének szabályozásában**

A legújabb kutatások szerint a *Ccr4-Not* komplex nemcsak az mRNS-ek termelődését, translációját és lebomlását szabályozza, hanem meghatározza a proteaszóma integritását is [20]. Mivel a proteaszóma degradálásra váró poliubikvitinált fehérjék végső lebontását végzi, jelentős hatást gyakorol a már megtermelődött fehérjéknek az élettartamára is, így gyakorlatilag az aktív proteaszóma mennyisége határozza meg a sejtek fehérjéinek átlagos élettartamát. Kutatásainkból kiderült, hogy a proteaszóma Rpt1 és Rpt2 (*Regulatory particle triple-A 1 és 2*) fehérjéi proteotoxikus stresszhatásra *Not1* tartalmú granulumokban gyűlnek össze [20]. Riboszóma footprinting kísérletek rávilágítottak, hogy a *Not1* tartalmú granulumokban az Rpt1 és az Rpt2 translációja elakad, és csak akkor folytatódik, ha a fehérjék N-terminálisán jelen lévő hélicei kölcsönhatásba kerülnek egymással. Vizsgálataink arra engednek következtetni, hogy a kotranszlációs összeszerelődés jelentősége



kettős. A folyamat nemcsak a két fehérje szoros és oldható formában történő interakcióját teszi lehetővé, hanem szerepe lehet abban is, hogy sztöchiometrikusan azonos mennyiségű Rpt1 és Rpt2 transzlálódjon. Az Rpt1 és Rpt2 fehérjék szomszédos fehérjék a proteaszómán belül, ennek ellenére élesztő-kéthibrid kísérletben nem mutatnak kölcsönhatást, és külön termeltetve nem oldhatók [21, 22]. Véleményünk szerint e jelenségek magyarázata, hogy az Rpt1 és az Rpt2 hatékonyan kizárólag a fentiekben részletezett kotranszlációs N-terminális kölcsönhatással képesek egymással kölcsönhatásba lépni. Amennyiben ez nem történik meg, a külön-külön termelődött fehérjék olyan alternatív konformációt vesznek fel, amely kölcsönhatásukat és a proteaszómába való beépülésüket nem teszi lehetővé.

További érdekesség az Rpt1 és Rpt2 kotranszlációs összeszerelődésével kapcsolatban, hogy egyik fehérje N-terminális sem tartalmaz másodlagos szerkezeti elemeket, hanem csak ún. rendezetlen szerkezetű fehérje régiókat. Mivel az N-terminálisok deléciója drasztikusan lecsökkenti a *Not1* tartalmú granulumok kialakulását [20], ezeknek a régióknak funkcionális szempontból különösen nagy jelentőséget tulajdonítunk. A granulumok természete egyelőre még nem ismert, korábbi kutatási eredmények alapján azonban azt feltételezzük, hogy fázisátmenet következményeképpen jönnek létre [20]. A folyadék-folyadék fázisátmenet során bizonyos makromolekulák, általában fehérjék, egy kritikus koncentrációt elérve, cseppé szeparálódnak a citoplazmán belül, ami végső soron egy új típusú kompartmentalizációt hoz létre, egyrészt egy gélszerű folyadékfázisú cseppet, amiben nagyon magas a fázisszeparált fehérje koncentrációja, és egy másikat, a citoplazmát, amiben alacsony. A fázisszeparáció szerepét a génexpresszió szabályozásában igazán csak a legutóbbi években kezdték felismerni és intenzíven vizsgálni [23]. Vannak olyan fehérjék, amelyek bizonyos partnerek jelenlétében vagy kovalens módosítások bekövetkezése esetén önmagukban is fázisátmenetre képesek. A Dhh1 (*DEAD box helicase homolog*) fehérje például ATP jelenlétében *in vitro* folyékony cseppekké szeparálódik. A kísérletek szerint ezt a fázisátmenetet Not1

hozzáadásával fel lehet oldani.

A rendezetlen fehérjestruktúrák fázisátmenetben betöltött szerepét nemrégiben tisztázták [24]. A klasszikus nézet szerint egy fehérjének ahhoz, hogy a funkcióját megfelelően el tudja látni, meghatározott térszerkezetet kell felvennie, amelyet az elsődleges szerkezet, az aminosavak sorrendje szab meg. Az utóbbi évtizedekben egyre több bizonyíték látott napvilágot arról, hogy ez nem minden esetben van így (lásd Tompa P. *Biokémia* XLIII/1: 49-53). Bizonyos fehérjék biológiai funkciójuk ellátása során nem feltétlenül egyetlen, jól definiált szerkezetet vehetnek csak fel [25]. Kiderült az is, hogy nem elszigetelt jelenségről van szó: az eukarióta fehérjék közel fele tartalmaz kisebb-nagyobb méretű rendezetlen régiókat, melyek gyakran fontos szabályozó és jelátviteli szerepet töltenek be [26]. Dinamikusan változó szerkezetük lehetővé teszi számos ligand megkötését, fehérje-fehérje interakció kialakítását, továbbá gyakran tartalmaznak poszt-transzlációs módosításokat. Mindezen tulajdonságaiknak köszönhetően a rendezetlen fehérjék számos interakciós partnerrel rendelkeznek, ami a sejtfolyamatok szabályozásának egyik kulcselemévé teszi őket [27, 28].

Mivel az Rpt1 és Rpt2 rendezetlen N-terminálisainak deléciója esetén sem alakulnak ki Not1 granulomok, tovább erősítve a gyanút, hogy a Not1 granulomok a proteaszóma összeszerelődés hatékonyságának növelése érdekében fázisszeparációval képződnek, mely folyamatban a rendezetlen N-terminális struktúráknak alapvető jelentősége van. A proteotoxikus stresszhatásra megjelenő Not1 tartalmú granulomokat asszembliázómáknak neveztük el [20]. Stresszhatásra néhány fehérje koncentrációja rövid idő alatt jelentősen megnövekedhet a citoplazmában. A stresszhatás elmúltával a feleslegessé vált, a stresszválaszban szerepet játszó fehérjéket valahogyan inaktíválni kell. Jelenlegi elképzeléseink szerint ez nem feltétlenül jelenti azt, hogy el kell őket távolítani vagy le kell őket bontani. Kézenfekvő megoldás a sejt részéről a megtermelt fehérjék legalább egy részét fázisszeparációval

elkülöníteni a citoplazmától, hogy újra bevezethetők legyenek ismételt stresszhatás esetén. Egy ilyen típusú szabályozásnak a stressz granulumoktól és P-testektől eltérő, nemrég felfedezett módja a Not1 asszociált mRNP granulumokhoz, az általunk asszembliszómáknak nevezett struktúrákhoz köthető [20].

### **Perspektíva: fázisátmenet, mint molekuláris memória**

Arra kerestük a választ, hogy milyen mechanizmussal történhet a fehérjék fázisátmenete, mennyire általános jelenség ez a sejtek stresszre adott válasza során, és a jelenség játszhat-e szerepet a többtagú fehérjekomplexek szintézisének szabályozásában, elősegítheti-e a termelő alogységek mennyiségének összehangolását.

Első lépésben megvizsgáltuk, hogy milyen gyakran teljesülnek elméletileg azok a feltételek, melyek kísérleteink szerint lehetővé teszik a fázisszeparációt az egymással kapcsolódni képes fehérjék esetében. Ennek érdekében kísérleteinkhez a megfelelő jelöltek kiválasztását az élesztő összes fehérjekomplexének szisztematikus bioinformatikai elemzésével kezdtük. Olyan fehérjéket kerestünk, amelyek nagy kiterjedésű rendezetlen régióval rendelkeznek az N-terminálisukon (min. 50% az első 50 aminosav esetében). A rendezetlen régiók predikcióját két független módszerrel is megerősítettük [29, 30]. Ezenfelül kiválasztottuk azokat a peptideket, amelyek potenciálisan ubikvitinálódhatnak, azaz a rendezetlen régióon belül hordoznak lizin aminosavakat. Az ubikvitinálódhatóságot a jelölt fehérjék további szűkítésére használtuk. Elméletünk szerint a riboszóma-naszcentsfehérje-komplexek fázisszeparációjának további feltétele, hogy a transzláció a fehérje N-terminálisának szintézise után leálljon, vagy legalább lényegesen lelassuljon. Élesztőben 17 olyan konzervált kodonpárt azonosítottak, amelyek a transzláció időleges leállításához vezethetnek [31]. Jelöltjeink kiválasztásánál figyelembe vettük ezen kodonpárok feldúsulását is, elsősorban az mRNS-ek rendezetlen N-terminálisához közel eső régiókban. Könnyű belátni, hogy amikor sok ilyen

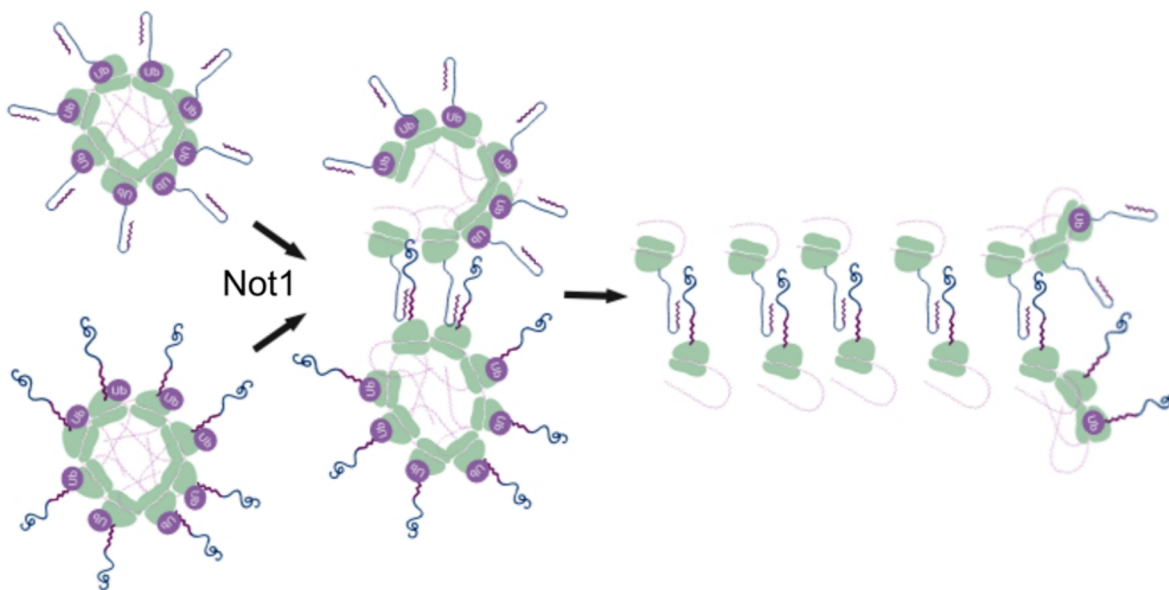


fehérje transzlálódik egyidejűleg, a ritka kodonokhoz illeszkedő ritka tRNS-ek hiánya léphet fel, ami a transzláció lassulásához vagy teljes leállításához vezethet, és ez a feltételezett riboszóma-naszcentsfehérje-komplexek fázisszeparációjának kedvezhet. Ráadásul stresszhatás esetén néhány géntermék jelentős túlsúlyba kerülhet, ebben az esetben a fázisátmenet védekezéséppen is hathat: elkülönítheti egy riboszóma-naszcentsfehérje-komplexeket tartalmazó cseppben azokat az mRNS-eket, amelyek kivonnának a forgalomból ritka tRNS-eket, és ezáltal toxikussá válnának.

A fenti szűrési módszerrel kapott fehérjéknek a sejtben betöltött szerepét ellenőriztük. A jelölt fehérjéket tartalmazó listában a környezeti stresszre adott válaszban szerepet játszó fehérjék feldúsulását tapasztaltuk. Ezek a találatok különösen érdekelték bennünket, hiszen a gyakran visszatérő környezeti stresszhatások esetében, amilyen például a napsugárzás, alapvető jelentősége lehet a fázisátmenetnek a válaszreakció felgyorsításában. Az első stresszhatásra mindenképpen be kell indítani a teljes génexpressziós kaszkádot, vagyis egyaránt fokozni a stresszhatás elleni védekezésben szerepet játszó gének transzkripcióját és transzlációját. Ha azonban a stresszhatás elmúltával a képződött mRNS-ek lebomlás helyett fázisszeparálódnak az őket transzláló riboszómákkal oly módon, hogy a transzlációjuk megindul, de megáll abban a fázisban, amikor a riboszómák már rövid naszcens fehérjéket lógnak ki magukból, akkor egy következő stresszhatásra már csak a transzlációt kell befejezni, jóval gyorsabb stresszválaszt téve lehetővé, ami óriási evolúciós előnyökkel jár. Elméletben a transzláció folytatását egyetlen aktivált partner megjelenése is kiválthatja, de a fázisszeparált állapot feloldásának egyéb módjai is elképzelhetőek (1. ábra).

Ezzel összhangban áll egy nemrégiben megjelent közlemény, amelyben a Not4 szerepét írták le az RNS polimeráz II Rpb1 alegységének ubiquitilációjában genotoxikus stressz hatására [32]. A Not4 egy E3-RING ubiquitin ligáz domént tartalmaz [33]. Feltételezésünk szerint a rendezetlen N-terminálison jelen lévő

lizinek ubikvitinációja olyan poszt-transzlációs módosítás, amely fontos szerepet tölthet be a fázisátmenetben. A riboszómákból kilógó rendezetlen naszcens fehérje-láncok és a riboszómák rendezetlen N-terminálisainak kölcsönhatásában a monoubikvitináció is fontos szerepet kaphat (1. ábra). A riboszóma alegységek közt szintén találtunk rendezetlen N-terminálissal rendelkező fehérjéket, ami arra utal, hogy ezek a fehérjék is aktívan részt vehetnek a fázisszeparációs komplex kialakulásában. Az ubikvitinációt korábban már összefüggésbe hozták a fázisátmenettel [34].



**1. ábra. Fázisszeparált riboszóma-naszcensfehérje-komplexek felolvasásának elméleti modellje kotranszlációs fehérjeösszeszerelés során.** Az mRNS a fázisszeparált granulomok belsejében helyezkedik el, védeve az RNS lebontó folyamatoktól. A riboszómák (zöld) és a belőlük kilógó naszcens fehérjeláncok (kék) monoubikvitinálódva (Ub) alakítanak granulumokat. A naszcens fehérjék rendezetlen N-terminálisai monoubikvitinálódva a granulomok felszínén várják az interakciós partner megjelenését, hogy sztöchiometrikus módon, kotranszlációs folyamatban szerelődhessenek össze.

A monoubikvitináció fázisátmenetben betöltött szerepét különösen érdekessé teszi, hogy a stresszhatás elmúltával a feleslegessé vált, a stresszválaszban szerepet játszó naszcens fehérjék gyakran poliubikvitinálódnak, lebomlanak. A képződött poliubikvitin lánc azonban későbbiekben monoubikvitin forrásként szolgálhat a riboszómák és az általuk transzlált naszcens fehérjék hatékonyabb fázisszeparációjához. A *Not4* érintettsége ebben a deubikvitinációs-monoubikvitinációs folyamatban is felmerül. A *Not4*-ről már ismeretes, hogy

monoubikvitilálja az Rps7a riboszóma alegységet [35], ennek a monoubikvitinációnak a pontos szerepe azonban még nem ismert. A naszcens fehérjeláncok ubikvitinálódását általában fehérje érési folyamatokkal hozzák összefüggésbe. Ez összecseng a mi elméletünkkel, hiszen amennyiben a monoubikvitináció hiánya gátolhatja a fázisszeparációt, a fenti kotranszlációs folyamatok, valamint a komplexek sztöchiometrikus összeszerelődése egyaránt csődöt mondhat, ami rendellenes fehérje éréshez vezethet.

>P06838 DNA repair protein RAD10

MNNTDPTSFE SILAGVAKLR KEKSGADTTG SQSLEIDASK LQQQEPQTSR RINSNQVINA FNQQKPEEWT  
 DSKATDDYNR KRPFSTRPG KTVLVNNTQK ENPLLNHLKS TNWRYVSSTG INMIYYDYLV RGRSVLFLTL  
 TYHKLYVDYI SRRMQPLSRN ENNILIFIVD DNNSEDTLND ITKLCMFNGF TLLLAFNFEQ AAKYIEYLNL

>P35187 ATP-dependent helicase SGS1

MVTKPSHNLK REHKWLKETA TLQEDKDFVQ QAIQKHIANK RPKTNSPPTT PSKDECGPGT TNFITSIPAS  
 GPTNTATKQH EVMQTLNNDT EWLSYTATSN QYADVPMVDI PASTSVVSNP RTPNGSKTHN FNTFRPHMAS  
 SLVENDSSRN LGSRNKNSV IDNSSIGKQL ENDIKLEVIR LQGLIMALK EQSKLLQKC SIIESTSLSE  
 DAKRLQLSRD IRPQLSNMSI RIDSLEKEII KAKKDGMSKD QSKGRSQVSS QDDNISSIL PSPLEYNTSS  
 RNSNLTSTTA TTVTALAIAIT GAKQNITNNT GKNSNDSNN DDLIQVLDDDE DDIDCDPPVI LKEGAPHSPA

>P28519 DNA repair protein RAD14

MTPEQKAKLE ANRKLAIERL RKRKILSSDQ LNRIESRNEP LKTRPLAVTS GSNRDDNAAA AVHVPNHNGQ  
 PSALANTNTN TTSLYGSGVV DGSKRDASVL DKRPTDRIRP SIRKQDYIEY DFATMQNLNG GYINPKDKLP  
 NSDFTDDQEF ESEFGSKKQK TLQDWKKEQL ERKMLYENAP PPEHISKAPK CIECHINIEM DPVLHDFVFL  
 QVCKQCSKEH PEKYALLTKT ECKEDYFLTD PELNDEDLFH RLEKPNPHSG TFARMQLFVR CEVEAFAPKK  
 WGGEEGLDEE WQRREEGKAH RREKKYEKKI KEMRLKTRAQ EYTNRIREKK HGKAHIHHS DPVDGGIDED  
 GYQIQRRRCT DCGLETEEID I

**2. ábra Az UV-hatásra kialakuló stresszválaszban szerepet játszó potenciálisan fázisszeparálódó fehérjék.** A fehérjék N-terminálisai erős rendezetlenséget mutatnak (kék), valamint a transzlációt leállító kodonpárok is megtalálhatók bennük (sárga). Mindegyik fehérje rendelkezik továbbá az ubikvitinációhoz szükséges lizin aminosavakkal N-terminális rendezetlen régiókban (K).

A sugárzás okozta stresszválaszban szerepet játszó komplexek fázisszeparációjának megismerése, annak közvetlen gyakorlati jelentősége miatt, különösen fontos számunkra. Amennyiben bebizonyosodik, hogy a fázisszeparáció jelensége az élővilágban általánosan jelen lévő szabályozó mechanizmus, jogosan feltételezhetjük, hogy magasabbrendű eukariótákban is hasonló folyamatok mennek végbe. A szabályozás pontos megismerésének közvetlen humán vonatkozásai is lehetnek. Az asszembliszmák létrejötte befolyásolhatja a rákos betegek sugárterápiára adott válaszát. Magyarazatot

adhat arra, hogy egyes tumorsejtek miért válnak idővel rezisztenssé a sugárterápiával szemben, és miért tapasztalunk bizonyos esetekben a kezdeti sikerek után komoly visszaesést a kezelés hatékonyságában. Sugárterápiára rezisztens daganatsejteknel éppen a fázisszeparáció lehet az ok, ami miatt az egymást követő kezelések után rezisztencia alakul ki. Az 1,6-hexándiolról kimutatták, hogy gátolja a fehérjék fázisátmenetét [36], ami lehetőséget ad, hogy sejtvonalakon igazoljuk a jelenség szerepét a sugárkezelés következtében kialakuló rezisztenciára. Távlati terveink között szerepel vizsgálataink kiterjesztése humán tumorsejtvonalakra.

Bioinformatikai elemzéseink eredményei három jelölt fehérje kiválasztásához vezettek. A fehérjék mindegyike szerepet játszik az UV okozta stresszre adott válaszban, mRNS és fehérje szekvenciájuk pedig maradéktalanul megfelel a fentebbiekben részletezett kritériumoknak, ami erős indikációt jelentett arra, hogy fázisszeparációs szabályozás alatt állhatnak.

### **Pilóta kísérlet**

Elméletünk alátámasztása céljából az 1,6-hexándiol fázisszeparációra gyakorolt negatív hatását vizsgáltuk élesztőn ismételt stresszhatás utáni túlélési tesztben. Stresszhatásnak az UVB sugárzást választottuk, mert bioinformatikai elemzésünkben UV sugárzás elleni védelemben szerepet játszó komplexek fehérjealegységeit azonosítottunk. A kiválasztott fehérjék N-terminálisai jelentősen rendezetlen riboszóma veszteglési kodonpárokat tartalmaznak a 30. aminosavat kódoló után. Ez már lehetővé teszi, hogy a rendezetlen N-terminálisai kilógnak a riboszómából (2. ábra), mivel a 30 aminosavnál rövidebb peptidek a riboszómán belül rejtve maradnak, csak az ennél hosszabbak bújnak elő a riboszóma fehérje kijárat alagútjából [37] (2. ábra).

Exponenciális növekedésbe lépő élesztő kultúrákat UV sugárzásnak tettünk ki, majd 10 percre sötétbe helyeztük őket, hogy a stresszhatás elmúltával kialakulhassanak bennük az asszembliszómák. Az egyik mintába 5%



végkoncentrációban etanolban oldott 1,6-hexándiolt adtunk közvetlenül az UV kezelés után, hogy a feltételezett fázisszeparáció gátlásával megakadályozzuk az asszembliszómák kialakulását. A másik mintához csak az 1,6-hexándiol kezeléssel megegyező térfogatú tiszta etanolt adtunk. Tíz perc sötétben történő inkubációt követően újra UV sugárzásnak tettük ki mindkét mintát, majd spot-teszttel vizsgáltuk a kezelt mintákban lévő élesztők túlélését 10, 100, 1000 és 10000-szeres hígításban (3.A ábra). A kísérletet ugyanazon a sejt kultúrán végeztük. Kontrollként megvizsgáltuk az UV kezelést egyáltalán nem kapó, kizárólag tiszta etanollal, illetve csak 1,6-hexándiollal kezelt sejt kultúrák életképességét is. A kísérletet követő 30 °C-os inkubációt sötétben és fény jelenlétében is elvégeztük. Az előbbi esetben a spot-teszteket és a kolóniák növesztését is végig sötétben végeztük. Erre azért volt szükség, mert ismeretes, hogy egysejtűekben létezik egy látható fény által indukálható DNS hibajavító rendszer [38]. A jelenséget kihasználtuk az 1,6-hexándiol toxikus hatásának felderítésében is (3. ábra).

#### *Anyagok és módszerek*

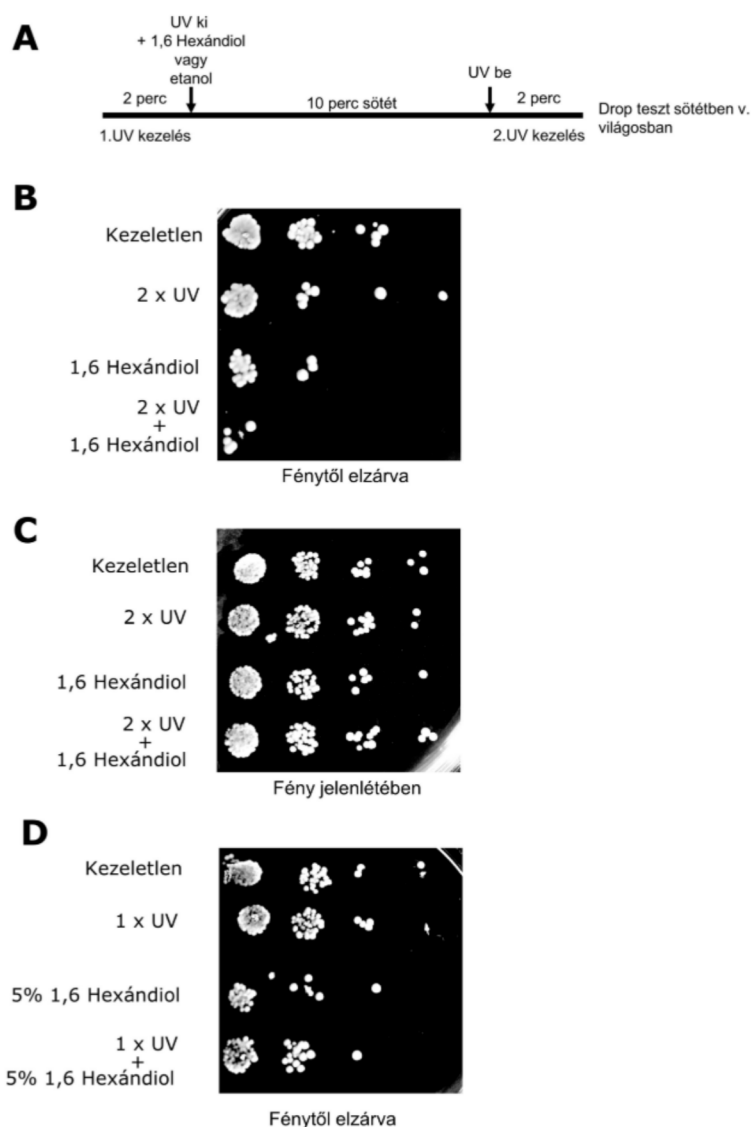
Vad típusú élesztősejtekkel (L40) kísérleteztünk standard YPD folyékony és szilárd táptalaj felhasználásával. Minden UV besugárzás 2 percre tartott (18 mJ/cm<sup>2</sup> dózis). Exponenciális növekedésbe lépő 900 µl folyékony sejt kultúrákkal (0,4 OD<sub>600</sub>) 2 cm átmérőjű Petri csészében végeztük a kezeléseket. Az 1,6-hexándiolt (SIGMA) 5% végkoncentrációban adtuk 100 µl etanol közvetítésével. Az 1,6-hexándiollal nem kezelt sejtekhez ugyanabban az időpontban, mint amikor az 1,6-hexándiolt alkalmaztuk, 100 µl tiszta etanolt adtunk az első UV kezelés után. A második UV kezelést 10 perc sötétben történő inkubáció után végeztük. A kezeléseket szobahőn, sötét szobában végeztük, 4 egymást követő 10x-es hígítás után 5 µl-t cseppentettünk minden hígításból szilárd, előszárított táptalajra gyenge sárga fényenél. Ezután vagy sötétben, vagy világosban inkubáltuk a szilárd táptalajra cseppentett hígításokat egy napig, 30 °C-on.

*Eredmények*

Ismétlődő UV kezelés károsító hatását az 1,6-hexándiol fokozza, ebben az esetben a túlélők száma jelentősen lecsökken. Az 1,6-hexándiol UV kezelés nélkül is kismértékű toxikus hatással bír, de az UV károsodás mértékét az 1,6-hexándiol kezelés sokkal jelentősebben, legalább további egy nagyságrenddel fokozta (3.B ábra, különbség a 3. és 4. sor között). Ez a hatás nem volt kimutatható, ha a kísérleteket látható fényben végeztük (3.C ábra). Ismert, hogy látható fényben bekapcsol egy fény indukált DNS hibajavító rendszer [38]. Mivel fény jelenlétében a mintákban nem volt különbség az 1,6-hexándiollal kezelt és nem kezelt minták UV érzékenységében, kijelenthetjük, hogy az 1,6-hexándiol az UV által indukált DNS hibák kijavítását csak akkor befolyásolja, ha a fény indukált hibajavító rendszer nem működik. Mivel egyszeri UVB sugárzás alkalmazása esetén nincs különbség az 1,6-hexándiollal kezelt vagy nem kezelt, sötétben növesztett sejtek UV érzékenységében, úgy gondoljuk, hogy az 1,6-hexándiol kizárólag az asszembliszómák kialakulásának gátlásán keresztül fejti ki érzékenyítő hatását (3.D ábra, nincs szignifikáns különbség a sejtek számában egyetlen UV kezelés után). Ez alátámasztja feltételezésünket, hiszen úgy gondoljuk, hogy a második UV kezelés az, ahol a már előre előkészített fázisszeparált asszembliszómákkal és az ezekben tárolt, részlegesen transzlált stresszfehérjékkel rendelkező sejtek jelentős előnybe kerülhetnek azokkal a társaikkal szemben, akiknek ismételt besugárzás esetén újból meg kell termelniük a stresszfehérjéket kódoló mRNS-eket és újból elindítani a teljes transzlációs folyamatot az 1,6-hexándiol fázisszeparációt gátló hatása miatt. Mivel az 1,6-hexándiol kezelés csak a sötétben növesztett sejtek ismétlődő UV besugárzása esetén csökkentette a túlélést, úgy véljük, hogy az 1,6-hexándiol érzékenyítő hatása közvetlenül a DNS hibajavító mechanizmusok gátlásán keresztül valósul meg, és azt a látható fényben minden esetben indukálódó DNS hibajavítási kaszkád aktiválódása szupresszálja (3.A, B és C ábra).

## Konklúziók

Kísérleteink és az irodalomban fellelhető adatok egyaránt támogatják azt a kiindulási elképzelésünket, hogy létezik egy olyan, riboszóma-naszcensfehérje-komplexek fázis-szeparációján alapuló, génexpressziós szabályozási rendszer, amely rendkívül gyorsan válaszolhat a sejtek potenciális károsodását eredményező külső vagy belső stresszhatásokra. A stresszválasz felgyorsítása jelentősen javíthatja a sejtek túlélési esélyeit.



**3. ábra. Az 1,6-hexándiol és az UVB sugárzás hatása a sejtek életképességére. A)** A kísérlet menete, **B)** Az **A** szerinti sémával sötétben kezelt és növesztett élesztősejtek növekedése 10, 100, 1000 és 10000-szeres hígításban vizsgálva. **C)** Ugyanaz, mint **B**, csak a kolóniák látható fény jelenlétében fejlődtek. **D)** Az első UV kezelés után kezelt sejtek egyből lemezre kerültek, és sötétben növekedtek.



Elméletileg akár teljes génszabályozási-kaszádok is épülhetnek fázisszeparációs szabályozásra. Könnyű ezt belátni, ha figyelembe vesszük, hogy az *Rpt1-Rpt2* kotranszlációs interakciójához hasonlóan a partnerek jelenléte önmagában elég lehet az elakadt transláció folytatásához és a gélyszerű állapotból való kiváláshoz, más szóval a fázisszeparált állapot felolvadásához. A fázisszeparált granulumban tárolt fehérjék egy részének eltávozása azonban nem szükségszerűen okozza magának a granulumnak a teljes felolvadását. Nem zárhatjuk ki, hogy akár különböző komplexek alegységeit tartalmazó részlegesen translált fehérjék is tárolódhatnak egyetlen granulumon belül. Mikor újból indukálódik valamely stresszkomplex transzkripciója, a már részlegesen megtermelődött tagok fehérjéinek a riboszómákról kilógó N-terminális doménjei kapcsolódhatnak az újonnan termelődött vagy más módon aktivált partnerekkel, ami kiválthatja a translációs blokk feloldását. Ez esetben csak azok a riboszómák válnak ki a granulumból, amelyek a részlegesen már átírt naszcens fehérje partnert tartalmazzák. A folyamat végén az immár teljesen átírt fehérje, partneréhez kotranszlációsan kapcsolódva, elhagyhatja a riboszómát, magának a fázisszeparált kompartmentnek a megzavarása vagy megszűnése nélkül. Ilyen értelemben a fázisszeparált granulumban egy sejtmagon kívüli környezeti hatásra aktiválódó, sokféle válaszra képes entitásként működhet. Az ilyen összetett, az asszembliszómákhoz hasonló fázisszeparált kompartmentumok a környezeti hatásokra azonnal reagálni képesek, semmilyen további szignalizációt nem igénylő, robusztus, automatikusan működő, értelmező központként is felfoghatók. Az egyszerűbb felépítésű, csak egyazon komplex két különböző egymáshoz kapcsolódó alegységét tartalmazó asszembliszómák pedig megteremtik az elméleti lehetőségét a fehérjekomplex sztöchiometrikus módon történő kotranszlációs összeszerelődésének (1. ábra).

Egy bizonyos: a felvetődött lehetőségek kísérletes vizsgálata rengeteg érdekes felfedezést hozhat mindazoknak, akik kíváncsiak a fázisszeparációban részt vevő új szereplők azonosítására, a folyamat részleteinek és mechanizmusának

megismerésére és motiváltak ennek az újszerű, kevésbé ismert, de rendkívül sokoldalúan alkalmazható elméleti génexpressziós szabályozási lehetőségnek a részletesebb felderítésére.

### Köszönetnyilvánítás

Munkánk a GINOP-2.3.2-15-2016-00020 pályázat támogatásával készült. Köszönjük Dr. Bajusz Izabella lektori munkáját, és Dr. Vedelek Balázs kritikai észrevételeit a kézirattal kapcsolatban.

### Irodalomjegyzék

- [1] Yanofsky, C. (1981) Attenuation in the control of expression of bacterial operons. *Nature*, **289**: 751.
- [2] Harel-Sharvit, L., Eldad, N., Haimovich, G., Barkai, O., Duek, L. and Choder, M. (2010) RNA polymerase II subunits link transcription and mRNA decay to translation. *Cell*, **143**: 552–563.
- [3] Schulz, D., Pirkl, N., Lehmann, E. and Cramer, P. (2014) Rpb4 subunit functions mainly in mRNA synthesis by RNA polymerase II. *J Biol Chem*, **289**: 17446–17452.
- [4] Dori-Bachash, M., Shema, E. and Tirosh, I. (2011) Coupled evolution of transcription and mRNA degradation. *PLoS Biol*, **9**: e1001106.
- [5] Sun, M., Schwalb, B., Pirkl, N., Maier, K.C., Schenk, A., Failmezger, H., Tresch, A. and Cramer, P. (2013) Global analysis of eukaryotic mRNA degradation reveals Xrn1-dependent buffering of transcript levels. *Mol Cell*, **52**: 52–62.
- [6] Tucker, M., Valencia-Sanchez, M.A., Staples, R.R., Chen, J., Denis, C.L., et al. (2001) The transcription factor associated Ccr4 and Caf1 proteins are components of the major cytoplasmic mRNA deadenylase in *Saccharomyces cerevisiae*. *Cell*, **104**: 377–386.
- [7] Wahle, E., Winkler, G.S. (2013) RNA decay machines: Deadenylation by the Ccr4-Not and Pan2-Pan3 complexes. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1829**: 561–570.

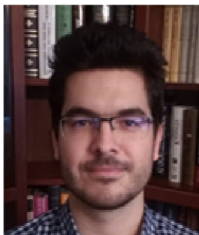
- [8] Denis, C.L. (1984) Identification of new genes involved in the regulation of yeast alcohol dehydrogenase II. *Genetics*, **108**: 833-844.
- [9] Collart, M. A., Struhl, K. (1993). CDC39, an essential nuclear protein that negatively regulates transcription and differentially affects the constitutive and inducible HIS3 promoters. *EMBO J*, **12**: 177–186.
- [10] Collart, M. A., Struhl, K. (1994). NOT1(CDC39), NOT2(CDC36), NOT3, and NOT4 encode a global-negative regulator of transcription that differentially affects TATA-element utilization. *Genes Dev*, **8**: 525–537.
- [11] Villanyi, Z., Ribaud, V., Kassem, S., Panasenko, O. O., Pahi, Z., Gupta, I., Steinmetz, L., Boros, I., Collart, M. A. (2014). The Not5 subunit of the ccr4-not complex connects transcription and translation. *PLoS Genet*, **10**: e1004569.
- [12] Kassem, S., Villanyi, Z., Collart, M. A. (2017). Not5-dependent co-translational assembly of Ada2 and Spt20 is essential for functional integrity of SAGA. *Nucleic Acids Res*, **45**: 1186–1199.
- [13] Somesh, B. P., J. Reid, W. F. Liu, T. M. Sogaard, H. Erdjument-Bromage, P. Tempst, and J. Q. Svejstrup. (2005). Multiple mechanisms confining RNA polymerase II ubiquitylation to polymerases undergoing transcriptional arrest. *Cell*, **121**: 913-923.
- [14] Boulon, S., Pradet, B., Balade, C., Verheggen, D., Molle, S. Boireau, M., Georgieva, K., Azzag, M.C., Robert, Y., Ahmad, H., Neel, A.I., Lamond, E., Bertrand, E. (2010) HSP90 and its R2TP/Prefoldin-like cochaperone are involved in the cytoplasmic assembly of RNA polymerase II. *Mol Cell*, **39**: 912-924.
- [15] Gupta, I., Villanyi, Z., Kassem, S., Hughes, C., Panasenko, O. O., Steinmetz, L. M., Collart, M.A. (2016) Translational capacity of a cell is determined during transcription elongation via the Ccr4-not complex. *Cell Rep* **15**: 1782–1794.
- [16] Lotan, R., Goler Bar-On, V., Harel-Sharvit, L., Duek, L., Melamed, D., Choder, M. (2005) The RNA polymerase II subunit Rpb4p mediates decay of a specific class of mRNAs. *Genes & Dev* **19**: 3004–3016.

- [17] Collart, M.A. (2003) Global control of gene expression in yeast by the Ccr4-Not complex. *Gene* **313**: 1–16.
- [18] Collart, M.A., Panasenko, O.O. (2012) The Ccr4–not complex. *Gene* **492**: 42–53.
- [19] Miller, E., Reese, J.C. (2012) Ccr4-Not complex: the control freak of eukaryotic cells. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, **47**: 315-333.
- [20] Panasenko, O.O., Somasekharan, S.P., Villanyi, Z., Zagatti, M., Bezrukov, F., Rashpa, R., Cornut, J., Iqbal, J., Longis, M., Carl, S.H., Peña, C., Panse, V.G., Collart, M.A. (2019) Co-translational assembly of proteasome subunits in NOT1-containing assembliesomes. *Nat Struct Mol Biol*, **26**: 110-120.
- [21] Barrault, M. B. et al. (2012) Dual functions of the Hsm3 protein in chaperoning and scaffolding regulatory particle subunits during the proteasome assembly. *Proc Natl Acad Sci USA*, **109**: 1001–1010.
- [22] Fu, H., Reis, N., Lee, Y., Glickman, M. H. & Vierstra, R. D. (2001) Subunit interaction maps for the regulatory particle of the 26S proteasome and the COP9 signalosome. *EMBO J* **20**: 7096–7107.
- [23] Alberti, S. (2017) Phase separation in biology. *Curr Biol*, **27**: 1097- 1102.
- [24] Posey, A.E., Holehouse, A.S., Pappu, R.V. (2018) Phase Separation of Intrinsically Disordered Proteins. *Methods Enzymol*, **611**:1-30.
- [25] Kriwacki, R.W., Hengst, L., Tennant, L., Reed, S.I. and Wright, P.E. (1996) Structural studies of p21Waf1/Cip1/Sdi1 in the free and Cdk2-bound state: conformational disorder mediates binding diversity. *Proc Natl Acad Sci USA*, **93**: 11504–11509.
- [26] Dunker, A.K., Brown, C.J., Lawson, J.D., Iakoucheva, L.M. and Obradovic, Z. (2002) Intrinsic disorder and protein function. *Biochemistry*, **41**: 6573–6582.
- [27] Gsponer, J. and Babu, M.M. (2009) The rules of disorder or why disorder rules. *Prog Biophys Mol Biol*, **99**: 94–103.
- [28] Iakoucheva, L.M., Brown, C.J., Lawson, J.D., Obradović, Z., Dunker, A.K. (2002) Intrinsic disorder in cell-signaling and cancer-associated proteins. *J*

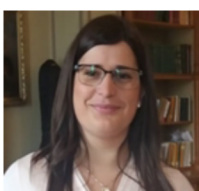
- Mol Biol*, **323**: 573-584.
- [29] Peng, K., Radivojac, P., Vucetic, S., Dunker, A.K. and Obradovic, Z. (2006) Length-dependent prediction of protein intrinsic disorder. *BMC Bioinformatics* **7**: 208.
- [30] Dosztányi, Z., Csizmók, V., Tompa, P. and Simon, I. (2005) The Pairwise Energy Content Estimated from Amino Acid Composition Discriminates between Folded and Intrinsically Unstructured Proteins. *J Mol Biol*, **347**: 827-839.
- [31] Ghoneim, D.H., Zhang, X., Brule, C.E., Mathews, D.H., Grayhack, E.J. (2018) Conservation of location of several specific inhibitory codon pairs in the *Saccharomyces sensu stricto* yeasts reveals translational selection. *Nucleic Acids Res*, **3**: 1164–1177.
- [32] Jiang, H., Wolgast, M., Beebe, L.M., Reese, J.C. (2019) Ccr4-Not maintains genomic integrity by controlling the ubiquitylation and degradation of arrested RNAPII. *Genes Dev*, Published in advance, doi: 10.1101/gad.322453.118.
- [33] Panasenko, O.O. (2014) The role of the E3 ligase Not4 in cotranslational quality control. *Front Genet* **5**: 141.
- [34] Dao, T.P., Kolaitis, R.M., Kim, H.J., O'Donovan, K., Martyniak, B., Colicino, E., Hehnly, H., Taylor, J.P., Castañeda, C.A. (2018) Ubiquitin Modulates Liquid-Liquid Phase Separation of UBQLN2 via Disruption of Multivalent Interactions. *Mol Cell*, **69**: 965-978.
- [35] Panasenko, O.O., Collart, M.A. (2012) Presence of Not5 and ubiquitinated Rps7A in polysome fractions depends upon the Not4 E3 ligase. *Mol Microbiol*, **83**: 640–653.
- [36] Kroschwald, S., Maharana, S., Alberti S. (2017) Hexanediol: a chemical probe to investigate the material properties of membrane-less compartments. *Matters*, 10.19185/matters.201702000010
- [37] Fedyukina, D.V., Cavagnero, S. (2011) Protein folding at the exit tunnel. *Annu Rev Biophys*, **40**: 337–359.
- [38] Kelner, A. A. (1949) Photoreactivation of ultraviolet-irradiated *Escherichia*



Coli, with special reference to the dose-reduction principle and to ultraviolet induced mutation. *J Bacteriol*, **58**: 511-22.



**Györkei Ádám** 2011-ben az SZTE-n szerzett biológus diplomát. Ezzel egy időben kezdte meg bioinformatikusi munkáját az SZBK Evolúciós Rendszerbiológia Csoportjában, melyet azóta is végez Dr. Papp Balázs vezetése alatt. Kutatásainak középpontjában az evolúciós folyamatok állnak, melynek tükrében vizsgálta, többek között, az anyagcserehálózatok adaptív evolúcióját és az antibiotikum rezisztencia kialakulását. Jelenleg az *Escherichia coli* fehérje aggregációját befolyásoló tényezők felderítésén dolgozik.



**Szatmári Orsolya** az SZTE TTIK Biológia mesterszakán végzett 2016-ban. 2017 óta dolgozik az SZTE TTIK Biokémiai és Molekuláris Biológia tanszékén, Prof. Dr. Boros Imre Miklós kutatócsoportjában. Kutatásai középpontjában az egyes daganat típusokban bekövetkező génműködési változások állnak. Melanóma, emlőtumorok, hólyagdaganatok, vesedaganatok és leukémia vizsgálatával foglalkozik.



**Villányi Zoltán** 2004-ben a Szent István Egyetemen szerzett agrármérnök diplomát, szakdolgozatát Prof. Orosz László laboratóriumában készítette. 2008-ban az SZTE Multidiszciplináris Orvostudományok Doktori Iskolájában szerzett PhD fokozatot Prof. Szabad János tanítványaként. A Genfi Egyetem Orvostudományi Karán öt éves posztdoktori időszakot töltött 2011-től, amelyet két év adjunktusi munka követett Prof. Martine Anne Collart laboratóriumában. 2019-től az SZTE Biokémia és Molekuláris Biológia Tanszékén Prof. Boros Imre Miklós csoportjában dolgozik. Kutatásai a különböző génextpressziós lépések között fellépő szabályozó folyamatok felderítésére irányulnak.