

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**A PP4 foszfatáz és a Centrobín kapcsolata a DNS
hibajavítás késői szakaszaiban**

Réthy-Nagy Zsuzsánna

Témavezető:

Dr. Lipinszki Zoltán

tudományos főmunkatárs

Szegedi Biológiai Kutatóközpont

Biológia Doktori Iskola

Szegedi Tudományegyetem, Természettudományi és Informatikai Kar

HUN-REN Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biokémiai Intézet

2023

Szeged

Bevezetés

A fehérjék reverzibilis foszforilációja az egyik leggyakoribb poszttranszlációs módosítás az Eukarióta sejtekben. Ezt a gyors és egyszerű módosítást a fehérje kinázok szabályozzák, míg a fehérje foszfatázok képesek eltávolítani a foszfát csoportokat. Érdekes módon, míg az emberi genom több mint 500 fehérje kinázt kódol, ehhez képest a fehérje foszfatázok száma viszonylag kevés (kb. 120). Azért, hogy a foszfatázok ellensúlyozni tudják ezt a számbéli különbséget több alegységes, ún. holoenzimeket hoznak létre, melyek különböző szubsztrátum garnitúrával rendelkeznek. Az így létrejött holoenzimek részt vesznek a génexpresszió, az apoptózis, a sejtosztódási ciklus, az egyedfejlődés, a DNS hibajavítás és különféle jelátviteli utak szabályozásában.

Amikor a sejtek örökítő anyaga (DNS) külső vagy belső hatásokra károsodást szenved, egy szigorúan szabályozott folyamat, a DNS-károsodásra adott válasz-mechanizmus (DDR) aktiválódik, hogy megőrizze a genom integritását. A DDR számos folyamatot koordinál, beleértve a különféle DNS sérülés érzékelését, a sejtciklus leállítását, valamint a DNS hibajavító mechanizmusok aktiválását és a működését. A kettősszalú DNS töréseket a homológ rekombinációs hibajavító mechanizmus (HR), valamint a nem homológ végek összekapcsolásán alapuló apparátus (NHEJ) képes kijavítani. A HR folyamatot számos fehérje kináz szabályozza, ideértve az ATR, ATM és DNA-PK enzimeket, valamint a Chk1 és a Chk2 kinázokat. Ugyanakkor, a folyamat finomhangolásában, leállításában és a sejt normális ciklusba való visszatérésében kulcsszerepe van a fehérje foszfatázoknak, ideértve a PP1, PP2A, PP4 és Cdc14 enzimeket. A PP4 többek között defoszforilálja és ezzel modulálja az ATR kinázt, valamint annak egyik végrehajtó molekuláját a Chk2 kinázt, továbbá a DNS hibákat jelző γ H2AX fehérjét és a DNS hibajavításban szerepet játszó RPA2 toborzó polipeptidet is.

Az evolúciósan konzervált és létfontosságú PP4 holoenzim komplex egy katalitikus (PP4c), egy állványzat (R2), és egy szabályozó (R3, *Drosophila melanogaster*-ben Falafel, emberben R3A, illetve R3B) alegységből szerelődik össze. Kutatócsoportunk korábbi munkái rámutattak, hogy az R3 alegység N-terminálisán található nem kanonikus EVH1 domén felelős a PP4-célfehérjékben lévő FxxP vagy MxPP rövid lineáris motívumok felismeréséért és megkötésért. Ennek a felismerésnek köszönhetően az *ecetmuslica* PP4 számos FxxP, illetve MxPP motívum tartalmú, feltételezett szubsztrátumát azonosítottuk, beleértve a Centrobin (Ctb) fehérjét is, amelyet emberben is kimutattak. A Ctb egy centroszómális fehérje, amely részt vesz a centriólumok osztódásának, valamint a mikrotubulusok (ideértve a mitotikus orsót is) dinamikájának szabályozásában a sejtciklus folyamán. A fentiek mellett Ryu és munkatársai

kimutatták, hogy a Ctb-t az ATR kináz foszforilálja UV sugárzás okozta DNS károsodás hatására, valamint a fehérje 781-es pozíciójában található szerin (S781) aminosava foszforilálódik röntgensugárzással való kezelést követően, ami szintén duplaszálú töréseket indukálhat a DNS-ben. Következésképpen, a Ctb részt vesz a DDR folyamataiban is.

Ezért célul tűztük ki, hogy megvizsgáljuk a Ctb és PP4 holoenzim közötti kölcsönhatás mechanizmusát, az FxxP motívum integritásának szükségét, valamint a két fehérje együttműködését a DNS hibajavítás során. Végezetül pedig a Ctb S781-es aminosavának szerepét a DNS hibajavításban.

Az alkalmazott módszerek

1. Alkalmazott molekuláris biológiai, biokémiai és mikroszkópos technikák

- pFlagCMV4-Ctb variánsokat kódoló plazmid DNS konstrukciók létrehozása hagyományos klónozással
- A Centrobin 771-FxxP-774, illetve 781-SQ-782 motívumainak mutációja helyspecifikus mutagenezissel
- Plazmid preparálás alkalikus lízis módszerével
- pDEST15 és pDEST53 plazmid konstrukciók létrehozása Gateway klónozással
- Baktériumok transzformációja
- Rekombináns fehérje termeltetés és tisztítás affinitáskromatográfiával
- Fehérjetermelődés vizsgálata a sejtekben nátrium-dodecil-szulfát poliakrilamid gélelektroforézis (SDS-PAGE) és western blot technikával
- *In vitro* kötési kísérlethez radioaktívan jelölt fehérje termeltetése *in vitro* transzkripció és transláció rendszerben, ³⁵S-jelölt fehérjék autordiográfián alapuló detektálása
- Sejtkultúrák fenntartása (HeLa, HEK293, DR-GFP U2OS), legyűjtése
- Humán sejtek transzfektálása plazmid konstrukciókkal és siRNS-sel
- *In vivo* kötés kimutatása ko-immunoprecipitációval
- Polimeráz-lánreakció (PCR)
- Humán sejtek kulturálása, fixálása és immunfestése
- S fázisos sejtek EdU jelölése és γ H2AX fókuszok számolása
- Reprezentatív mikroszkópos képek készítése
- GFP alapú homológ rekombinációs kísérlet kivitelezése
- Mitotikus kromoszómák preparálása humán sejtekből

1. *In silico* módszerek

- Oligonukleotid primerek és plazmid DNS konstrukciók tervezése (SnapGene)
- Képelemzés (ImageJ) és képszerkesztő programok használata (Adobe Illustrator, Adobe Photoshop)
- Statisztikai elemzés (OriginGraph)
- Homológ rekombinációs frekvencia meghatározása (CellProfiler)

Eredmények és megvitatásuk

1. A PP4 foszfatáz R3 alegységének konzervált szubsztrátum-felismerő mechanizmusának vizsgálata

Bizonyítottuk, hogy a PP4 foszfatáz R3 alegységének EVH1 doménje és a Ctb fehérje közti kölcsönhatása konzervált. Korábban kimutattuk, hogy a *Drosophila* Ctb és R3-EVH1 fehérjék közti kölcsönhatás a Ctb fehérje 36-tól 39 aminosavig tartó MPPP motívumától függ. Kísérleteinket tovább folytatva igazoltuk, hogy nemcsak a *Drosophila*, hanem a humán R3-EVH1 domén is képes kötni ugyanazt a 36-tól 39 aminosavig tartó MPPP motívumot az *ecetmuslica* Ctb (Dm-Ctb) fehérjében. Az MPPP motívum mutációja APPA-ra a kötés megszűnéséhez vezet *in vitro*. Az emberi Ctb fehérjében egy FRVP motívum található a fehérje C-terminálisán, mely szükséges az ember R3 alegységek és emberi Ctb (Hs-Ctb), illetve az *ecetmuslica* Ctb fehérjék közti interakcióra. A humán Ctb FRVP motívumának ARVA-ra és a *Drosophila* MPPP motívumának mutációja APPA-ra helyspecifikus mutagenézissel a kötés megszűnését eredményezi az R3 fehérjékkel, annak ellenére, hogy e motívumok a fehérjékben nem konzerváltak. Ezek a megfigyelések rávilágítanak a PP4R3 és a Ctb közötti kölcsönhatás konzervált természetére.

2. A teljes hosszúságú Flag-Ctb és a Flag-Ctb fragmentum fehérjék sejtben való lokalizációjának vizsgálata

A teljes hosszúságú Ctb fehérje nem volt alkalmazható funkcionális (*in vivo* kötés kimutatása, a fehérje lokalizációjának vizsgálata) vizsgálatokhoz, mert túlzott kifejeződésekor a sejtben kristályszerű struktúrákat képzett. Ezért a fehérjét a másodlagos szerkezete és korábbi tanulmányok alapján kisebb darabokra osztottuk. Az általunk vizsgált fragmentumok közül a legnagyobb a 180-tól 903 aminosavig tartó darab (Flag-Ctb-180-903aa) maradt szolúbilis és mutatta a Ctb-re jellemző centroszómális lokalizációt.

3. A humán PP4R3 és Ctb kölcsönhatásának vizsgálata *in vivo* módszerrel

A Ctb-180-903aa fragmentum használható volt *in vivo* kötési kísérletekhez. Ehhez együtt transzfektáltuk a GFP-t, a GFP-R3A-t vagy a GFP-R3B-t és a vad típusú Flag-címkével megjelölt Ctb-180-903aa (Flag-Ctb-180-903aa-WT), valamint annak ARVA (Flag-Ctb-180-903aa-ARVA) mutáns verzióját kódoló plazmid konstrukciókat. Eredményeink azt mutatták, hogy mind az R3A-hoz, mind az R3B-hez kötődik a Flag-Ctb-180-903aa fragment az FRVP

motívumon keresztül. A motívum mutációja a kötés megszűnéséhez vezetett *in vivo* is. Ezen eredmények igazolják, hogy a Ctb-180-903aa fragmentum egyetlen FxxP motívum révén kötődik a PP4-hez.

4. A PP4R3 és Ctb együttműködése a DNS hibajavításban

4.1. A PP4 alegységek és Ctb hiánya késést okoz a DNS hibajavításban

A γ H2AX a H2AX hiszton egyik változata, ahol a 139-es szerin gyors foszforiláció megy keresztül válaszul a DNS károsodásra. Ezt a jelenséget a folyamat nyomon követésére használják, lehetővé téve a DNS hibajavító mechanizmusok vizsgálatát. A DNS hibajavítást követően a γ H2AX PP4 általi defoszforilációja után a sejtciklus újra indulhat. A Ctb és a PP4 közötti kapcsolat vizsgálatára a DNS hibajavítás során kísérleteket végeztünk EdU-impulzusjelölt S-fázisú HeLa sejteken. Röntgensugárzás kezelés és a Ctb, valamint a PP4 alegységek csendesítése a γ H2AX sejtmagi fókuszok szignifikáns növekedését eredményezte, ami fennmaradt 8 óra elteltével a besugárzást követően. Mindez a DNS hibajavítás csökkent hatásfokát jelezi.

4.2. A PP4 és Ctb csendesítés hatására jelentősen lecsökken a homológ rekombináció hatékonysága

Emellett homológ rekombinációs mechanizmus (HR) frekvenciaméréseket is végeztünk a DR-GFP U2OS riporter sejt vonal segítségével. Ez a sejt vonal két csonka *gfp* kazettát tartalmaz, amelyek közül az egyik egy I-SceI meganukleáz felismerési helyet hordoz. Az I-SceI hasítást követően a DSB-et a sejt HR-val javítja ki a másik csonka *gfp* kazettát templátként használva, így a GFP expressziója helyreállhat. A GFP-pozitív sejtek száma határozza meg a HR hatásfokát. Kísérleteinkben a *ctb*, a *pp4c*, az *r3a*, az *r3b* vagy a *ctb* és a *pp4c* együtt csendesítése a HR jelentős csökkenését eredményezte, alátámasztva, hogy a PP4 és Ctb szerepet játszik a HR szabályozásban.

4.3. A PP4 alegységek és Ctb hiányában kromoszóma hibák jelentkeznek a mitózisban

Ezt követően a Ctb és a PP4 alegységek csendesítésének késői hatását vizsgáltuk röntgensugárzást követően a kromoszómakárosodások elemzésével. Megfigyeltük, hogy a kontrollhoz képest röntgen kezelés hatására a Ctb és PP4 hiányos mintákban megnövekedett a kromoszóma-rendellenességek száma, különösen az úgynevezett zárt kromoszómakarok (angolul arms-closed) előfordulása. A jelenség az ún. Holliday Junction struktúrák nem

megfelelő felbontására és a testvérkromatidák összetapadására utalhat. Az előbb említett és a fenti eredmények azt mutatják, hogy a Ctb és a PP4c együtt dolgozhatnak a Holliday Junction struktúrák megfelelő feloldásának szabályozásában a HR által közvetített DNS-hiba javítás folyamatában.

5. A Ctb ATR kináz általi foszforilációs helyének vizsgálata

5.1. *In vitro* kötési kísérlet a Ctb ATR foszforilációs helyének mutáns változatai és a PP4-R3A és R3B alegységek közt

A közelmúltban, egy kutatócsoport SILAC-vizsgálat segítségével kimutatta, hogy a Ctb SQ-motívumában található S781 az ATM vagy az ATR kináz által foszforilálódhat röntgen kezelés hatására. A Ctb elsődleges szerkezetének tanulmányozásakor észrevettük azt, hogy az SQ motívum a Ctb PP4 kötőhelyének közelében található (771-FRVP-774), amely kölcsönhatásba lép a PP4R3A és R3B alegységeivel. Annak érdekében, hogy az SQ motívum szerepét is meg tudjuk vizsgálni a DNS-károsodásra adott válaszban a már vizsgált ARVA változat mellett létrehoztunk további két mutáns Ctb fehérjét: S781A és S781D. Kísérletinkben arra lettünk figyelmesek, hogy az S781A és S781D mutációk nem voltak hatással a Ctb és az R3A vagy R3B közötti kölcsönhatásra *in vitro*, ami arra utal, hogy míg az FRVP motívum szükséges a kötéshez, ahogy azt korábban kimutattuk, addig az SQ motívum nem.

5.2. *In vivo* kötési kísérlet a Ctb Ser781 pontmutánsai és a PP4R3A/B alegységek között

Ahhoz, hogy megbizonyosodjunk arról, hogy a kötés *in vivo* is létrejön, immunoprecipitációs kísérletet végeztünk humán sejtekből. Ehhez HEK293 sejteket együtt transzfektáltuk GFP, GFP-R3A vagy GFP-R3B, valamint Flag-Ctb-180-903aa-WT, Flag-Ctb-180-903aa-S781A vagy Flag-Ctb-180-903aa-S781D fehérjéket kódoló plazmidokkal. Eredményeink az *in vitro* kísérletekhez hasonlóan azt mutatták, hogy az R3 alegységek és a Flag-Ctb-180-903aa közti kölcsönhatást nem befolyásolja az ATR kináz foszforilációs helyének mutációja *in vivo* sem.

5.3. A Ctb csendesítés és röntgenkezelés hatására kialakuló hibás kromoszóma morfológia menekítése

További kísérletekben megvizsgáltuk a különböző Ctb-változatok hatását a DNS-hibajavítás mechanizmusában. A vad típusú Flag-Ctb-180-903aa-WT, Flag-Ctb-180-903aa-771-ARVA-774 (FRVP mutáns formája), Flag-Ctb-180-903aa-S781A vagy Flag-Ctb-180-

903aa-S781D mutánst kódoló plazmid konstrukciókat és Ctb siRNS-t együtt transzfektáltuk HeLa sejtekbe, majd vizsgáltuk a DNS hibajavítás hiányában megjelenő kromoszóma rendelleneségek számát. A kromoszóma-rendellenesség-vizsgálatban a Ctb-t nem tartalmazó sejtek megnövekedett számú zárt kromoszómakarú morfológiát mutattak röntgensugárzást követően, amely fenotípust a vad típusú Ctb-fragmentumok expressziója képes volt helyreállítani. A különböző Ctb-fragmentumok expressziója pedig nem tudta menekíteni ezt a fenotípus változást, kimutatva a PP4 FRVP-motívumhoz való kötődésének és az SQ-motívum integritásának fontosságát a Ctb DNS hibajavítás szabályozásában betöltött szerepében.

Összefoglalás

A fehérje kinázokon túl, a fehérje foszfatázoknak is kritikus szerepe van a megfelelő DNS hibajavításban. Azáltal, hogy a kinázok aktivitását ellensúlyozzák, valamint segítik a sejtet a normál sejtciklusba való visszatérésbe. Az evolúciósan konzervált PP4 foszfatáz szerepe ismert a DNS hibajavításban, de annak molekuláris részletei eddig ismeretlenek voltak. A PP4 foszfatáz leggyakrabban a sejtben a PP4c-R2-R3 heterotrimer holoenzimként van jelen, ahol a PP4c az enzim katalitikus, az R2 a váz, az R3 pedig a szabályozó alegysége.

Megelőző kutatásunk során azonosítottuk, hogy az R3 alegység N-terminális EVH1 doménje ismeri fel és köti meg a PP4 kölcsönható partnereit, azokban található FxxP és MxPP konszenzus motívumokon keresztül. Ezek a kötő motívumok számos fehérjében megtalálhatók, például a centriólum-specifikus Centrobin (Ctb) fehérjében. Eredményeink szerint a humán Ctb FxxP motívuma (771-FRVP-774) fontos szerepet játszik az R3 alegységhez történő kötéshez, mind *in vitro*, mind *in vivo* környezetben. További kutatások rámutattak arra, hogy az ATR kináz foszforilálja a Ctb fehérjét, és röntgensugárzás hatására a fehérje Ser781-es aminosava is foszforilált. Tanulmányaink szerint a PP4 foszfatáz katalitikus és regulátor alegységeinek (R3A és R3B), valamint a Ctb hiányában a γ H2AX fókuszok, azaz a DNS hibajelzések száma magas marad a röntgensugárzást követően 8 órával. Ezen kívül megfigyeltük, hogy a vizsgált fehérjék hiányában a homológ rekombináció javítási frekvenciája is csökken. Továbbá kimutattuk, hogy a G2/M ellenőrző pont inaktiválásakor, a röntgensugárzás kezelés után a PP4 alegységek és a Ctb csendesítése rendellenes kromoszómamorfológiát okoz.

Eredményeink rávilágítottak arra, hogy az S781 aminosav, valamint a FRVP-motívum megléte, létfontosságú a Ctb megfelelő DNS hibajavító funkciójához. A szerin cseréje alaninra (S781A), vagy pedig aszparaginsavra (S781D), illetve a fenilalanin és a prolin kicserélése alaninra (771-ARVA-774) a Ctb fehérjében megakadályozta, hogy a fehérje pótolja az endogén Ctb funkcióját.

Összefoglalva, kutatásaink során igazoltuk a PP4 Ctb FRVP-motívumához való kötődésének fontosságát és az SQ-motívum integritását a fehérjében a DNS hibajavítás során.

Summary

Beyond protein kinases, protein phosphatases also play a critical role in DNA damage response. They counterbalance the activity of kinases and assist the cell in returning to the normal cell cycle. The evolutionarily conserved role of PP4 phosphatase in DNA repair has been known, but its molecular details have remained unknown. PP4 phosphatase is most commonly present in cells as the PP4c-R2-R3 heterotrimer holoenzyme, where PP4c is the catalytic component, R2 serves as the scaffold, and R3 acts as the regulatory subunit.

In our previous research, we explored that the N-terminal EVH1 domain of the R3 subunit recognizes and binds to PP4 interacting partners through FxxP and MxPP consensus motifs found within them. These binding motifs are found in numerous proteins, including the centriole-specific Centrobin (Ctb) protein. In addition, our results indicate that the human Ctb's FxxP motif (771-FRVP-774) plays a crucial role in binding to the R3 subunit, both *in vitro* and *in vivo* conditions.

Further studies have revealed that the ATR kinase phosphorylates the Ctb protein, and exposure to X-rays results in the phosphorylation of the protein's Ser781 amino acid. Based on our results, in the absence of PP4 phosphatase's catalytic and regulatory subunits (R3A and R3B) and Ctb, the number of γ H2AX foci, which serve as DNA damage markers, remains increased 8 hours after X-ray exposure. Furthermore, we observed a reduction in the frequency of homologous recombination repair in the absence of these proteins. In addition, we found that silencing the PP4 subunits and Ctb after G2/M checkpoint inactivation following X-ray treatment leads to abnormal chromosomal morphology.

Our findings underline the key role of the Ser781 amino acid and the presence of the FRVP motif in maintaining the DNA repair function of Ctb. Substituting serine with alanine (S781A) or asparagine (S781D) or replacing phenylalanine and proline with alanine (771-ARVA-774) in the Ctb protein prevented it from restoring its endogenous Ctb function.

In sum, our research confirms the importance of Ctb's binding to the PP4 FRVP motif and the integrity of the SQ motif within the protein during DNA repair.

Publikációs lista

MTMT azonosító: 10069440

Impakt faktor (IF) összesen: 44,51

Idézettség: 22 összesen, ebből 14 független.

H-index: 2

1. A doktori eljárás alapját képező 2 db közlemény:

Réthy-Nagy Z.; Ábrahám E.; Sinka R.; Juhász S.; Lipinszki Z. Protein Phosphatase 4 Is Required for Centrobilin Function in DNA Damage Repair. *Cells*. 2023, 12, 2219. (IF: 6)

Réthy-Nagy Z., Ábrahám E, Lipinszki Z. GST-IVTT pull-down: a fast and versatile *in vitro* method for validating and mapping protein-protein interactions. *FEBS Open Biology*. 2022; 12(11):1988-1995. (IF: 2,6)

2. Referált folyóiratban megjelent közlemények:

1.1. A disszertáció témájához kapcsolódó közlemények:

Réthy-Nagy Z., Ábrahám E, Lipinszki Z. GST-IVTT pull-down: a fast and versatile *in vitro* method for validating and mapping protein-protein interactions. *FEBS Open Biology*. 2022; 12(11):1988-1995. (IF: 2,6)

Réthy-Nagy Z.; Ábrahám E.; Sinka R.; Juhász S.; Lipinszki Z. Protein Phosphatase 4 Is Required for Centrobilin Function in DNA Damage Repair. *Cells*. 2023, 12, 2219. (IF: 6)

1.2. Egyéb közlemények:

Ábrahám E, **Réthy-Nagy Z.**, Vilmos P, Sinka R, Lipinszki Z. Plk4 Is a Novel Substrate of Protein Phosphatase 5. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023; 24(3):2033. (IF: 5,6)

Czekes Z, Bai D, Vincze J, Gál E, **Réthy-Nagy Z.**, Baia L, Pap Z. Commercial photocatalyst changes the behavior of *Formica pratensis* and *Formica polyctena*. *Environmental Science: Nano*. 2023; 10:72-79. (IF: 7,3)

Réthy-Nagy Z., Ábrahám E, Udvardy K, Klement É, Darula Z, Pál M, Katona RL, Tubák V, Páli T, Kóta Z, Sinka R, Udvardy A, Lipinszki Z. STABILON, a Novel Sequence Motif That Enhances the Expression and Accumulation of Intracellular and Secreted Proteins. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022; 23(15):8168. (IF: 5,6)

Borkúti P, Kristó I, Szabó A, Bajusz C, Kovács Z, **Réthy-Nagy Z.**, Lipinszki Z, Lukácsovich T, Bogdan S, Vilmos P. Parallel import mechanisms ensure the robust nuclear localization of actin in *Drosophila*. *Frontiers in Molecular Biosciences*. 2022; 9:963635. (IF: 5)

Kármán Z, **Réthy-Nagy Z**, Ábrahám E, Fábri-Ördögh L, Csonka Á, Vilmos P, Debski J, Dadlez M, Glover DM, Lipinszki Z. Novel perspectives of target-binding by the evolutionarily conserved PP4 phosphatase. *Open Biology*. 2020 ;10(12):200343. (IF: 6,41)

Alzyoud E, Vedelek V, **Réthy-Nagy Z**, Lipinszki Z, Sinka R. Microtubule Organizing Centers Contain Testis-Specific γ -TuRC Proteins in Spermatids of *Drosophila*. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2021; 9:727264. (IF: 6)

Karman Z, **Nagy Z**, Lipinszki Z. Foszforilálni vagy defoszforilálni: az itt a kérdés! *Biokémia: A Magyar Biokémiai Egyesület Folyóirata*, 2017; 41:2 (30-34).

3. Egyéb szakmai anyagok:

3.1. Konferencia előadások:

- 46th FEBS Congress 2022 (Lisszabon)
- XXV. Tavasz Szél Konferencia 2022 (Pécs), 3. díj
- Magyar Biokémiai Egyesület éves találkozója 2022 (Pécs)
- 27. ELTE Kárpát-Medencei Szakkollégiumi Konferencia 2022 (Budapest)
- 26. ELTE Kárpát-Medencei Szakkollégiumi Konferencia 2021 (online)
- 21. Kolozsvári Biológus Napok 2021 (Kolozsvár)
- 19. Vajdasági Magyar Tudományos Diákköri Konferencia 2020 (online)
- XXIII. Tavasz Szél Konferencia 2020 (online)
- Straub-Napok, 2019 (Szeged)
- 24. ELTE Kárpát-medencei Nyári Egyetem 2019 (Budapest)
- XXXIV. Országos Tudományos Diákköri Konferencia 2019 (Budapest), 2. díj
- 23. ELTE Kárpát-medencei Nyári Egyetem 2018 (Budapest)
- 19. Kolozsvári Biológus Napok 2018 (Kolozsvár)
- Sófi Ösztöndíj konferencia 2019 (Szeged), 2.díj

3.2. Poszterek

- Straub-napok 2023 (Szeged)
- 22nd FEBS Young Scientists' Forum 2022 (Vimeiro)
- Hungarian Molecular Life Sciences 2021 (Eger)
- Serbian Biochemical Society Ninth Conference 2019 (Belgrád)
- Hungarian Molecular Life Sciences 2019 (Eger)

Témavezetői Nyilatkozat

Alulírott **Dr. Lipinszki Zoltán** a jelölt (**Réthy-Nagy Zsuzsánna**) témavezetőjeként kijelentem, hogy a disszertáció a jelölt saját munkája, melyet a témavezetésem mellett önállóan készített el. Kijelentem, hogy a disszertáció megfelel az SZTE TTIK Biológia Doktori Iskola formai és tartalmi követelményeinek.

Szeged, 2023. 09. 27.

.....

Dr. Lipinszki Zoltán
tudományos főmunkatárs
Szegedi Biológiai Kutatóközpont