

## FOSZFORILÁLNI VAGY DEFOSZFORILÁLNI: AZ ITT A KÉRDÉS!

**Kármán Zoltán, Nagy Zsuzsánna és Lipinszki Zoltán**

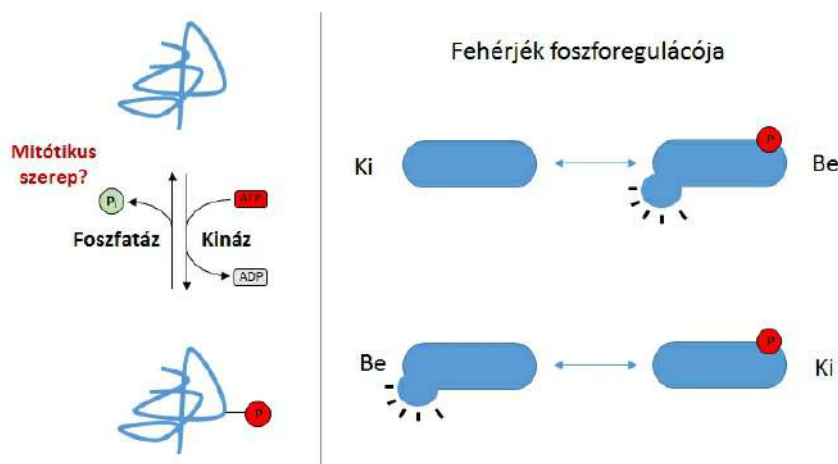
*MTA SZBK Biokémiai Intézet, Lendület Sejtciklus Szabályozás Kutatócsoport*

### **A sejtosztódás szabályozása**

Az eukarióta sejtek osztódása, amely lehet számtartó (mitózis) és számfelező (meiózis) alapfeltétele az egyedfejlődésnek, többsejtű élőlények kialakulásának, szöveti differenciálódásnak és regenerációnak, valamint a fajfenntartásnak – magának az életnek. Az osztódni képes sejt életciklusának leghosszabb szakaszában, az ún. interfázisban a sejt megduplázza genomját (és egyéb struktúráit), és elvégzi a DNS szintézis során keletkezett hibák kijavítását. Ezt követően a sejt felkészül a fizikai kettéosztódásra, amely a sejtciklus legrövidebb szakaszában, az ún. mitózis fázisában megy végbe. A mitózis során az anyasejt két utódsejtbe rendezi a már megkettőződött és egyenlő arányban szétválasztott genomját, így biztosítva a genetikai integritást az organizmus élete során. A sejtciklus hibás működése génmutációk, kromoszóma szerkezeti és számbeli eltérések és egyéb anomáliák kialakulását eredményezheti, melyek fejlődési rendellenességek, neurodegeneratív elváltozások vagy sejtproliferációs betegségek (pl. a rák) kialakulásához vezethetnek. Ezért fontos megismerni és megérteni, hogy milyen molekuláris folyamatok vesznek részt a sejtciklus és annak különféle fázisainak szabályozásában.

A sejtosztódási ciklus szigorúan szabályozott, melynek minden lépését precízen, magas fidelitással kell végrehajtani. E folyamatban kritikus szerepe van több száz fehérjének (és más makromolekulának), melyek katalitikus aktivitása, fizikai jelenléte és megfelelő működése meghatározó a sejtosztódás számára. Némelyek szerkezeti alkotóelemei szupramolekuláris képződményeknek, mint a kromoszómák, a centroszóma pár, a kinetokór vagy a centroméra. Mások katalitikus aktivitással rendelkező enzimek, melyek a szupramolekuláris

képződmények kialakulását irányítják, fehérjemolekulák működését, szubcelluláris elhelyezkedését, szállítását, lebontását vagy stabilitását szabályozzák.

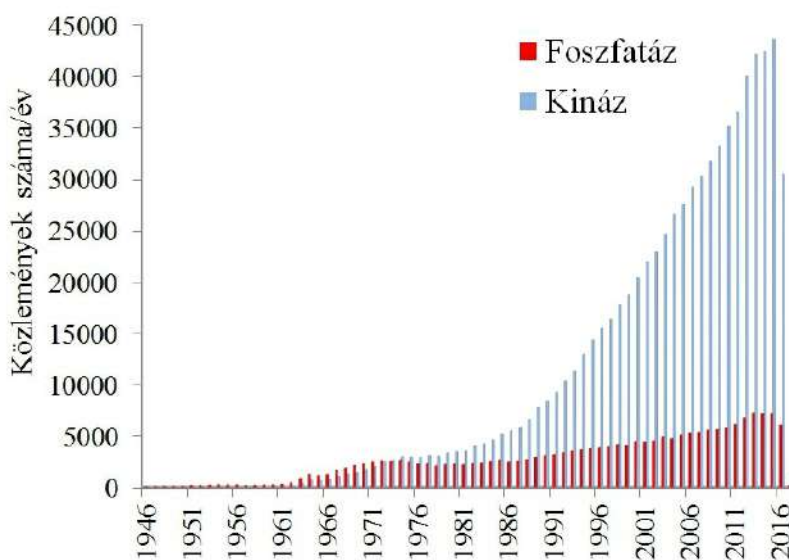


**1. ábra. A foszforiláció folyamata és hatása a célfehérjére.** A fehérjék foszforilációját kinázok katalizálják, míg defoszforilációjukért foszfatázok felelősek. A foszforilált célfehérje térszerkezeti változáson megy keresztül, mely a funkcióját is megváltoztathatja (pl. ki- vagy bekapcsolhatja egy enzim aktivitását).

A sejtciklus és különösképpen a mitózis szabályozásában kiemelkedő szerepe van az ún. fehérje foszforilációnak, amely az egyik leggyakoribb fehérjéket érintő reverzibilis poszt-szintetikus módosítás. A foszforiláció során a célfehérje tirozin, szerin vagy treonin aminosavainak oldalláncához egy negatív töltésű foszfát csoport kapcsolódik, melyet fehérje kinázok katalizálnak. Eltávolításában pedig a fehérje foszfatáz enzimek vesznek részt (1. ábra). Foszforiláció jelenlétében vagy hiányában megváltoznak a szubsztrátum fizikokémiai tulajdonságai, amelyek a célfehérje sejten vagy mitotikus struktúrákon belüli elhelyezkedését, aktivitását (ki- vagy bekapcsolás) (1. ábra), kölcsönható partnereinek összetételét vagy féléletidejét is meghatározhatják. A fehérje foszforilációs mintázata ugyanakkor eltérő is lehet attól függően, hogy melyik kináz módosítja és mely sejtciklus stádiumban, így egyetlen fehérje több különböző funkciót is betölthet e szabályozásnak köszönhetően. A foszforiláció tehát mintegy molekuláris kapcsoló játszik szerepet a sejtosztódás folyamatainak finomhangolásában.

## A fehérje foszfatázok - nehézségek

Tudománytörténeti érdekességnek számít, hogy míg a sejtosztódásban szerepet játszó mitotikus kinázok működéséről viszonylag nagy ismeretanyaggal rendelkezünk, ismerjük specifikus szubsztrátumaikat, szabályozásukat és működésük molekuláris részleteit [1-2] (persze nem minden esetben), alig tudunk valamit az ellentétes hatású fehérje foszfatázok szerepéről. Ennek egyik fő oka, hogy a fehérje foszfatázokat látszólag sokkal kevesebb érdeklődés övezte az elmúlt évtizedekben, mint a kinázokat, ami jól látható a megjelent közlemények számában is (2. ábra). Míg a kináz terület „exponenciális robbanás” ment keresztül, addig a foszfatázokról szóló munkák lassan gyarapodnak, és jóval lemaradnak a kinázok után. Ez azért is meglepő, mert az első foszfatázt évekkal előbb leírták mint, az első kinázt [3]. Mi lehet ennek a jelenségnek az oka?



**2. ábra. A kináz és foszfatáz területen közölt kutatómunkák gyakoriságának összehasonlítása.**

A történelmi okok között megemlíthető, hogy hosszú évekig az a téves elképzelés élt, hogy a fehérje foszfatázok háztartási enzimek, melyek mindenféle specifitást mellőzve, az újukba került összes foszforilált fehérjét defoszforilálják. Ma már tudjuk, hogy ez képtelenség, hiszen valamennyi foszfatáz enzim szigorúan meghatározott szubsztrátumkörrel rendelkezik, ideértve más fosz-

fatázokat [4-5] és kinázokat is [6-7]. A mitótikus kinázok többsége (auto)foszforiláció révén válik katalitikusan aktívvá, ezért adja magát a feltételezés, hogy a foszfatázok fontos szerepet játszanak a kinázok működésének szabályozásában is. Ma már tudjuk, hogy számos onkogén hatású mitótikus kináz [8] aktivitását valóban foszfatázok tartják kordában, ezért nem meglepő, hogy ezek az enzimek nagy érdeklődésre tettek szert az utóbbi években, s némelyiket potenciális tumorterápiás célpontként tartják számon [9-10].

A fehérje foszfatázok lassú megismerésének valódi oka azonban inkább technikai eredetű. A humán genom közel 500 kináz-aktivitású fehérjét kódol (szemben a 200 foszfatáz-aktivitású fehérjével [11]), melyek mind nagyon hasonló biokémiát alkalmazva működnek. A szubsztrátumhoz és foszfátdonorhoz való kapcsolódást követően a kináz szerkezeti változáson megy keresztül, amelyet a célfehérje gyors foszforilációja és disszociációja követ. Ezzel szemben a foszfatáz-aktivitással rendelkező fehérjék különféleképpen evolválódtak, mely különböző szerkezetű aktív centrumok kialakulásához vezetett, így teljesen más típusú katalitikus mechanizmus alkalmazásával működnek. Ez megnehezíti a velük végzett munkát a kutatásukhoz alkalmazható metodikák (ha egyáltalán rendelkezésre állnak) sokszínűsége miatt. Továbbá a legtöbb foszfatáz-aktivitású fehérje (katalitikus fehérje/alegység) szerkezeti komplexitást mutat, azaz különféle regulátor alegységekkel két vagy három (esetleg több) alegységes holoenzim komplexumot alkot. A regulátor alegységek feladata a katalitikus fehérje stabilitásának és aktivitásának szabályozása, sejten belüli elhelyezkedésének irányítása, kölcsönható partnereinek meghatározása és szubsztrátumainak megkötése. Míg a legtöbb (mitótikus) kináz közvetlenül kapcsolódik a célfehérjéhez (konszenzus motívumokat felismerve), addig a foszfatázok zöme regulátor alegységeivel kerül kapcsolatba a módosítandó fehérjével. Bonyolítja a képet, hogy egyetlen katalitikus alegység több különböző regulátor fehérjével alakíthat ki többalegységes holoenzimet, melyek mind egyedi szereppel bírnak a sejtfolyamatok szabályozásában. Egyes kutatások szerint a humán PP2A

(Protein Phosphatase 2A) foszfatáz katalitikus alegységének 2 izoformája mintegy 100 különböző heterotrimer holoenzimet hozhat létre, míg a PP1 (Protein Phosphatase 1) foszfatáz katalitikus alegységének 4 izoformája közel 200 heterodimer holoenzimet alkothat [12]. Ebből következik, hogy a többalegység-es foszfatázok esetében nem a katalitikus alegységet, hanem a szubsztrátum-specifitását felelős regulátor alegységeket kell vizsgálni (pl. a reverz genetika módszereit használva). Ez persze tovább komplikálja a kutatásokat, lévén a regulátor alegység repertoárja csak részben ismert.

A foszfatázkutatás további nehézségeit az adja, hogy a foszfatáz holoenzimek alegységei poszt-szintetikus módosításokon mehetnek keresztül. A módosítás fajtája meghatározhatja a holoenzim alegység összetételét [13-14], szubcelluláris lokalizációját vagy aktivitását [15]. Ezek azonosítása nehéz feladat. A fentiek terhére róható az is, hogy míg a kinázok esetében hatékonyan állítható elő rekombináns enzim *in vitro* foszforilációs teszthez, a többalegység-es fehérje foszfatázok rekonstruálása időigényes és sokszor nagyon nehezen megvalósítható feladat. Leggyakrabban a foszfatáz enzimet sejtekből történő közvetlen immunoprecipitációval állítják elő, amely alkalmas lehet ugyan *in vitro* tesztek elvégzéséhez, de már nem elégséges tisztaságú és mennyiségű szerkezetbiológiai kísérletekhez. Továbbá, míg a kinázok esetében a szubsztrátum módosítása radioaktív ATP jelenlétében autoradiográfiával rutinszerűen validálható, egy aktív fehérje foszfatáz holoenzim *in vitro* alkalmazásának feltétele az is, hogy rendelkezünk tisztított foszforilált szubsztrátummal. Ennek hiányában csak aspecifikus enzimaktivitási tesztek végezhetőek el. Végül, de nem utolsó sorban a szerkezeti komplexitás és diverz katalitikus aktivitás miatt problémát okoz a holoenzim-specifikus foszfatáz gátlók kifejlesztése is. A legtöbb kereskedelmi forgalomban kapható foszfatáz inhibitor foszfatáz családokat gátol, egyedi holoenzimek *in vivo* vizsgálatára nem alkalmas. Ezzel szemben a legtöbb mitotikus kináz specifikusan gátolható kis molekulású inhibitorokkal *in vivo*.

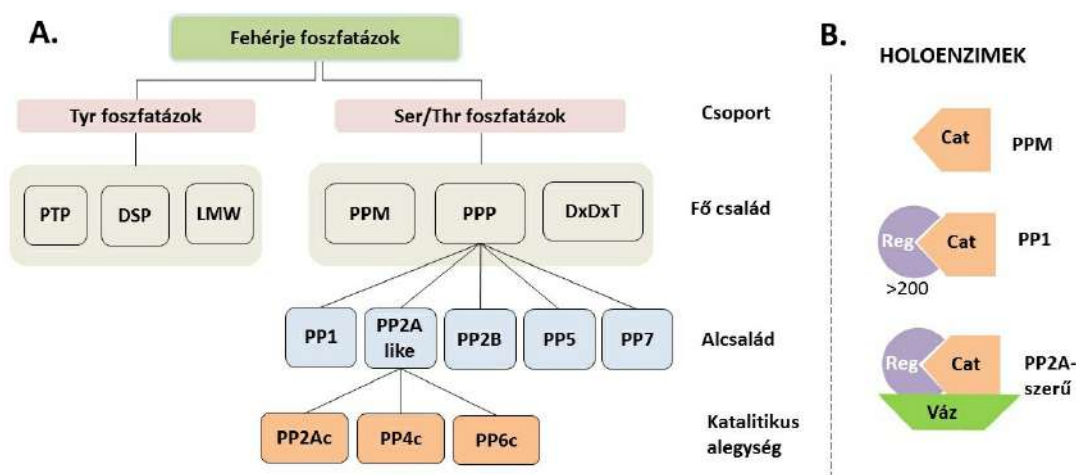
A technikai újításoknak köszönhetően a fehérje foszfatázok kutatása újra nyitott területté vált, amely a vállalkozó kedvű kutatók számára izgalmas felfedezéseket rejteget. Az MTA SZBK Biokémiai Intézetében induló Lendület Sejtciklus Szabályozás Kutatócsoport célja csatlakozni ehhez a kihíváshoz, hogy részleteiben is megismerhessük a foszfatázok mitótikus szerepét.

### **A fehérje foszfatázok – szerepük a sejtosztódásban**

A fehérje foszfatázoknak alapvetően két nagy csoportja ismert: a tirozin (Tyr) [16] és szerin/treonin (Ser/Thr) [17] foszfatázok, melyek további szerkezeti eltérő szuperfamiliaira oszthatók (3A. ábra). Habár mindkét főcsoportba tartozó enzimek részt vesznek a tágabb értelemben vett sejtciklus szabályozásában, a mitótikus kinázok katalizálta folyamatok reverzióját főként a Ser/Thr csoportba tartozó ősi PPP foszfatázok végzik, melyek esszenciálisak és nagymértékű konzerváltságot mutatnak a különféle fajokban. Tagjai (főként a PP1, PP2A-szerű, PP2B, PP5 és PP7 alcsaládba tartozók) részt vesznek a kromoszóma szegregáció, centroméra és kinetokór integritás, mitótikus orsó kialakulás és dinamika, centroszóma duplikáció és érés, mitótikus ellenőrző mechanizmusok és citokinézis folyamatainak szabályozásában [4-5, 18-23]. Fontos azonban megjegyezni, hogy a legtöbb idézett esetben csak a folyamatban nélkülözhetetlen szerepük tisztázódott, pontos funkciójuk, szubsztrátumaik vagy működésük molekuláris részletei nem teljesen ismertek.

A PPP foszfatázok viszonylag kisszámú katalitikus alegységei általában több alegységes holoenzimet alkotnak a hozzájuk tartozó különféle regulátor fehérjékkel (3B. ábra). Például a PP2A-típusú foszfatázok (PP2A, PP4 és PP6) általában heterotrimert alkotnak, melyben az evolúciósan konzerválódott katalitikus alegység (PP2Acat, PP4cat és PP6cat) egy szerkezeti fehérjével és a szubsztrátum-specifitásért felelős regulátor alegységgel alkot holoenzimet [13-14, 18-19, 24].

Attól függően, hogy pl. a PP2Acat melyik regulátor fehérjével (4 típusú B alegység és azok különböző izoformái) képez holoenzimet, más és más funkciója lesz a sejtműködés szabályozásában. Így pl. a PP2A-B55/Twins holoenzim a centroszóma duplikációt beindító Plk4 [25-26] kináz stabilitását szabályozza [6], míg a PP2A-B56 holoenzim a mitótikus orsó összeszerelődését ellenőrző mechanizmus finomhangolásában játszik szerepet [5].



**3. ábra. A fehérje foszfatázok osztályozása. A)** A fehérje foszfatázok Tyr és Ser/Thr csoportokra oszthatók. A Tyr foszfatázok PTP (protein tyrosine phosphatase), DSP (dual-specificity phosphatases) és LMW (low molecular weight) szupercsaládba, míg a Ser/Thr foszfatázok PPP (phosphoprotein phosphatases), PPM (Mg/Mn-dependent phosphatases) és DxTxT szupercsaládba osztályozhatók. A PPP további alcsaládjai a PP1, PP2A-szerű, PP2B, PP5 és PP7 foszfatázok. **B)** A foszfatázok katalitikus alegységei különböző összetételű holoenzim komplexumokat alkothatnak.

A PP4 foszfatáz is főként heterotrimerként működik, melyben a PP4cat komplexet képez egy szerkezeti (R1 vagy R2 alegység) és egy regulátor (R3) alegységgel [18, 24]. A kanonikus PP4 komplex mellett ismertek más alegységösszetételű (di- és trimer) PP4 holoenzimek is, melyek különféle celluláris funkciót töltenek be [24, 27, 28]. Érdekesség, hogy bár a PP2A-típusú foszfatázok katalitikus alegységei rendkívül magas szintű aminosav szekvencia homológiát mutatnak (a humán PP2Acat és PP4cat >65% azonosságot mutat aminosav szinten), a

velük asszociáló regulátor alegység repertoár teljesen különböző. Ennek okát ma még nem tudjuk.

Korábbi elképzelések szerint a mitózis szabályozásában kizárólag két robusztus fehérje foszfatáz, a PP1 és PP2A (azok különböző alegység összetételű holoenzimeik) vesznek részt. E két enzimes családról tudjuk, hogy a legnagyobb mennyiségben előforduló fehérje foszfatázok a sejtben és a mitózis (és tágabb értelemben vett sejtosztódási ciklus) minden szintjén regulációs funkcióval bírnak. Mitótikus kinázokkal összhangban olyan komplex folyamatok irányítását végzik, mint az ún. orsó-összeszerelődési ellenőrző mechanizmus (SAC, spindle assembly checkpoint), amely a megkettőződött genom túl korai szétválását és utódsejtekbe történő szegregációját gátolja [5]. Egyre több kutatás azonban azt sugallta, hogy némely mitótikus esemény szabályozása független a PP1 és PP2A-tól, és azok működésében más fehérje foszfatázok vehetnek részt. A genom projekteknek köszönhetően lehetőséggé vált teljes genomot lefedő géncsendesítési kísérletekből valóban kiderült, hogy kevésbé robusztus és ismert fehérje foszfatázok is szükségesek (és nélkülözhetetlenek) a mitózis levezényléséhez [20, 22, 29-30]. Fontos megjegyezni, hogy sok esetben nem ismert a foszfatáz pontos funkciója a mitózisban, szubsztrátumainak köre vagy a módosított aminosavak elhelyezkedése.

### **A csoportunk munkája**

*Ecetmuslica* modellben leírták, hogy a PP4 foszfatáz centroszómális felhalmozódást mutat és szükséges az ún. centroszóma érés folyamatához, amely előfeltétele a mitótikus orsó kialakulásának [22], de a foszfatáz szubsztrátumait nem sikerült azonosítani. David Glover csoportjában (University of Cambridge) a PP4 újfajta mitótikus szerepét fedeztük fel. Kimutattuk, hogy a PP4 kölcsönhat a CENP-C-vel, amely a centromérát a kinetokórral összekötő esszenciális fehérje [18]. Bizonyítottuk, hogy a PP4 részt vesz a CENP-C foszforegulációjában, amely alapfeltétele a centroméra-kinetokór stabilitás fenntartásának a mitózis folyamán. Meghatároztuk a PP4 regulátor alegységének (Falafel) és a CENP-C

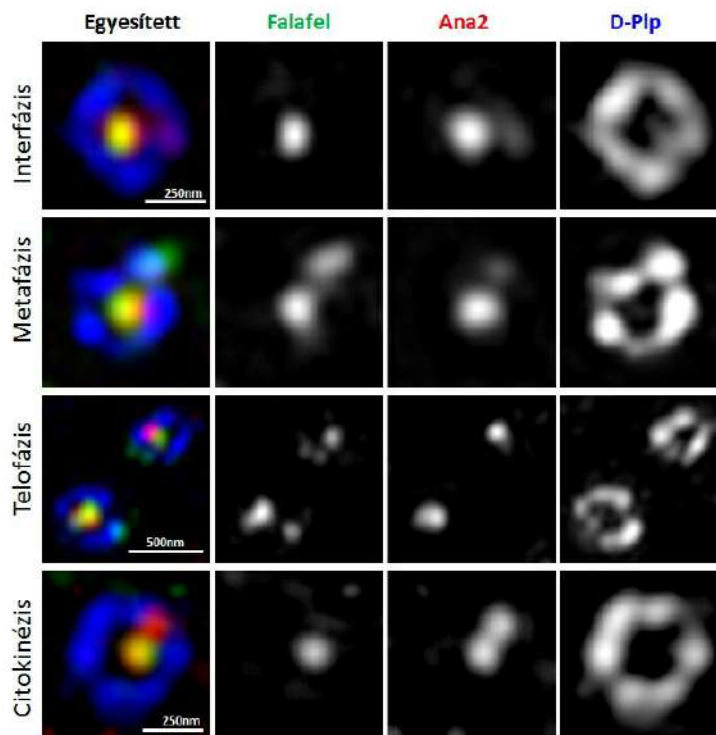


kölcsönható doménjeinek térszerkezetét (lásd címlap ábra), amely felfedte, hogy a PP4 teljesen más mechanizmussal köti meg szubsztrátumait, mint a PP1 vagy PP2A (és valószínűleg más PPP-k).

Hazatérve Szegedre, már egy OTKA-PD projekt keretein belül, újszerű technikát alkalmazva [31] további PPP foszfatáz szubsztrátumok és kölcsönható fehérjék azonosítását végeztük el. Ezek közül kiemelendő a PP4 Falafel alegységével kölcsönható Ana1 és Ana2 (Anastral spindle 1 és 2) centroszómális fehérjék. Az Ana1-ről korábban kimutattuk, hogy nélkülözhetetlen az ún. centroszóma konverzióhoz [32], amely alapfeltétele a centroszóma érésnek és ebből kifolyólag a mitotikus orsó kialakulásának, valamint a centroszóma duplikációnak. Az Ana2-ről pedig azt mutattuk ki, hogy foszforilált formájának jelenléte nélkülözhetetlen a centroszóma duplikáció beindulásához [25]. Szuperrezolúciós mikroszkópiát alkalmazva bizonyítottuk, hogy a PP4 Falafel alegysége megtalálható a centroszómák (az azt alkotó centriólum pár) központjában az Ana2 társaságában (4. ábra), az Ana1 által közrefogott zónában [32, 33]. Feltételezésünk szerint a PP4 foszfatáz mitotikus kinázokkal összhangban részt vehet az Ana2 és Ana1 fehérjék foszforegulációjában, ezáltal a centroszóma érési és replikációs folyamatainak irányításában (nem közölt adat).

A 2017 ősszén induló Lendület Kutatócsoport célja szisztematikusan megvizsgálni az összes olyan PPP foszfatázt, amely általános, illetve szövet és/vagy fejlődés-stádium specifikus [34] módon képes befolyásolni a mitózis folyamatát. Kutatásainkat eleinte ecetmuslicában végezzük, amely kiváló modellje a sejtciklus vizsgálatának, jól jellemzett és számtalan módszerrel vizsgálható modellorganizmus. Emellett, a humán mitotikus foszfatázok mindegyikének ismert a muslica ortológja, melyek nagyfokú hasonlóságot mutatnak (a humán PP4cat és muslica PP4cat >90% azonosságot mutat aminosav szinten). Célunk felderíteni az egyes foszfatáz holoenzimek alegység összetételét, specifikus mitotikus szubsztrátumainak körét, azonosítani és feltérképezni a célfehérjéken kialakult (de)foszforilációs helyeket és meghatározni a módosítás jelenlétének vagy

hiányának biológiai szerepét. Kutatásaink során klasszikus és újgenerációs genetikai, sejtbiológiai, molekuláris biológiai, proteomikai és biokémiai metódikákat fogunk alkalmazni.



**4. ábra. Szuperrezolúciós mikroszkópos felvétel a Falafel centroszómán belüli elhelyezkedéséről.** A sejtciklus különböző fázisaiban a PP4 foszfatáz Falafel regulátor alegysége a centroszómát alkotó hordó alakú centriólum pár közepében helyezkedik el. Az ábrán az érettebb ún. anyai centriólum felülnézeti képe látható. Az Ana2 a centriólum kialakulásához szükséges fehérje [25], amely a centriólum legbelső zónájában helyezkedik el és kolokalizál a Falafellel (a külső gyűrűn megjelenő Ana2 már a kevésbé érett, ún. leánycentriólumhoz tartozik – oldalsó nézet). A D-Pip (*Drosophila*-Pericentrin-like protein) a centriólum külső zónájában elhelyezkedő fehérje. Kép: George Tzolovsky (University of Cambridge).

Génkiütési, géncsendesítési és célzott fehérje degradációs kísérletekkel foszfatázok regulátor alegységeit fogjuk eltávolítani, így lehetőségünk lesz ismert alegység összetételű holoenzimek inaktiválására és ennek mitotikus figurákra gyakorolt hatásának vizsgálatára. Távlati terveink között szerepel globális, a teljes proteómot lefedő foszforilációs térképezés elvégzése holoenzim-inaktivált szövetekben, foszfatáz komplexumok rekonstruálása rekombináns fehérjékből *in vitro* defoszforilációs tesztek létrehozásához, gátlószerek kidolgozásához és

szerkezetbiológiai kísérletekhez, valamint a vizsgálataink kiterjesztése emlős modellekre is. Úgy véljük, hogy a csoport munkája hozzájárul majd a mitózis irányítását végző folyamatok mélyebb megértéséhez, melyhez kalandvágó és a kutatási irány iránt elhivatott munkatársak jelentkezését várjuk.

### Köszönetnyilvánítás

Munkánkat a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (OTKA-PD115404), a Nemzetgazdasági Minisztérium (GINOP-2.3.2-15-2016-00001 és GINOP-2.3.2-15-2016-00032), valamint az MTA támogatja (Bolyai János Kutatási Ösztöndíj (bo\_329\_15) és Lendület program (LP2017-7/2017)). A szerzők hálásak a *Drosophila* Genomics Resource Center-nek (NIH 2P40OD010949) a rendelkezésükre bocsátott reagensekért, George Tzolovsky-nak (University of Cambridge, Glover csoport) az OMX mikroszkópiában nyújtott segítségével, Martin Singleton-nak (The Francis Crick Institute, London) a 3D-s modellért, az Európai Bizottságnak az Erasmus+ Ösztöndíj támogatásért (N.ZS.), valamint az SZTE TTIK Biológia Doktori Iskolának a doktorandusz ösztöndíj támogatásért (K.Z.).

### Irodalomjegyzék

- [1] Nigg, E.A. (2001) Mitotic kinases as regulators of cell division and its checkpoints. *Nature reviews. Molecular Cell Biology*, **2 (1)**: 21-32.
- [2] Bettencourt-Dias, M., Giet, R., Sinka, R., Mazumdar, A., Lock, W.G., Balloux, F., Zafiropoulos, P.J., Yamaguchi, S., Winter, S., Carthew, R.W., Cooper, M., Jones, D., Frenz, L., Glover, D.M. (2004) Genome-wide survey of protein kinases required for cell cycle progression. *Nature*, **432 (7020)**: 980-7.
- [3] Brautigan, D.L. (2013) Protein Ser/Thr phosphatases--the ugly ducklings of cell signalling. *The FEBS journal*, **280: (2)** 324-45.
- [4] Grallert, A., Boke, E., Hagting, A., Hodgson, B., Connolly, Y., Griffiths, J.R., Smith, D.L., Pines, J., Hagan, I.M. (2015) A PP1-PP2A phosphatase relay controls mitotic progression. *Nature*, **517 (7532)**: 94-8.
- [5] Nijenhuis, W., Vallardi, G., Teixeira, A., Kops, G.J., Saurin, A.T. (2014) Negative feedback at kinetochores underlies a responsive spindle checkpoint signal. *Nature Cell Biology*, **16 (12)**: 1257-64.

- [6] Brownlee, C.W., Klebba, J.E., Buster, D.W., Rogers, G.C. (2011) The Protein Phosphatase 2A regulatory subunit Twins stabilizes Plk4 to induce centriole amplification. *The Journal of Cell Biology*, **195 (2)**: 231-43.
- [7] Hammond, D., Zeng, K., Espert, A., Bastos, R.N., Baron, R.D., Gruneberg, U., Barr, F.A. (2013) Melanoma-associated mutations in protein phosphatase 6 cause chromosome instability and DNA damage owing to dysregulated Aurora-A. *Journal of Cell Science*, **126 (Pt 15)**: 3429-40.
- [8] Lens, S.M., Voest, E.E., Medema, R.H. (2010) Shared and separate functions of polo-like kinases and aurora kinases in cancer. *Nat Rev Cancer*, **10 (12)**: 825-41.
- [9] Berndt, N. (2000) Serine/threonine-specific protein phosphatases and cancer. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, **4 (5)**: 581-608.
- [10] Ventura, J.J., Nebreda, A.R. (2006) Protein kinases and phosphatases as therapeutic targets in cancer. *Clinical and Translational Oncology*, **8 (3)**: 153-160.
- [11] Sacco, F., Perfetto, L., Castagnoli, L., Cesareni, G. (2012) The human phosphatase interactome: An intricate family portrait. *FEBS Letters*, **586 (17)**: 2732-9.
- [12] Kiely, M., Kiely, P.A. (2015) PP2A: The Wolf in Sheep's Clothing? *Cancers*, **7 (2)**: 648-69.
- [13] Hwang, J., Lee, J.A., Pallas, D.C. (2016) Leucine Carboxyl Methyltransferase 1 (LCMT-1) Methylates Protein Phosphatase 4 (PP4) and Protein Phosphatase 6 (PP6) and Differentially Regulates the Stable Formation of Different PP4 Holoenzymes. *The Journal of Biological Chemistry*, **291 (40)**: 21008-21019.
- [14] Cho, U.S., Xu, W. (2007) Crystal structure of a protein phosphatase 2A heterotrimeric holoenzyme. *Nature*, **445 (7123)**: 53-7.
- [15] Voss, M., Campbell, K., Saranzewa, N., Campbell, D.G., Hastie, C.J., Pegg, M.W., Martin-Granados, C., Prescott, A.R., Cohen, P.T. (2013) Protein phosphatase 4 is phosphorylated and inactivated by Cdk in response to spindle toxins and interacts with gamma-tubulin. *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)*, **12(17)**: 2876-87.
- [16] Tonks, N.K. (2013) Protein tyrosine phosphatases--from housekeeping enzymes to master regulators of signal transduction. *The FEBS Journal*, **280 (2)**: 346-78.
- [17] Shi, Y. (2009) Serine/threonine phosphatases: mechanism through structure. *Cell*, **139 (3)**: 468-84.
- [18] Lipinszki, Z., Lefevre, S., Savoian, M.S., Singleton, M.R., Glover, D.M., Przewlaka, M.R. (2015) Centromeric binding and activity of Protein Phosphatase 4. *Nat Commun*, **6**: 5894.

- [19] Barr, F.A., Elliott, P.R., Gruneberg, U. (2011) Protein phosphatases and the regulation of mitosis. *Journal of Cell Science*, **124 (Pt 14)**: 2323-34.
- [20] Chen, F., Archambault, V., Kar, A., Lio, P., D'Avino, P.P., Sinka, R., Lilley, K., Laue, E.D., Deak, P., Capalbo, L., Glover, D.M. (2007) Multiple protein phosphatases are required for mitosis in *Drosophila*. *Current Biology : CB*, **17 (4)**: 293-303.
- [21] Cundell, M.J., Bastos, R.N., Zhang, T., Holder, J., Gruneberg, U., Novak, B., Barr, F.A. (2013) The BEG (PP2A-B55/ENSA/Greatwall) pathway ensures cytokinesis follows chromosome separation. *Molecular Cell*, **52 (3)**: 393-405.
- [22] Helps, N.R., Brewis, N.D., Lineruth, K., Davis, T., Kaiser, K., Cohen, P.T.W. (1998) Protein phosphatase 4 is an essential enzyme required for organisation of microtubules at centrosomes in *Drosophila* embryos. *Journal of Cell Science*, **111**: 1331-1340.
- [23] Mochida, S., Hunt, T. (2012) Protein phosphatases and their regulation in the control of mitosis. *EMBO Rep*, **13 (3)**: 197-203.
- [24] Gingras, A.C., Caballero, M., Zarske, M., Sanchez, A., Hazbun, T.R., Fields, S., Sonenberg, N., Hafen, E., Raught, B., Aebersold, R. (2005) A novel, evolutionarily conserved protein phosphatase complex involved in cisplatin sensitivity. *Molecular & cellular proteomics : MCP*, **4 (11)**: 1725-40.
- [25] Dzhindzhev, N.S., Tzolovsky, G., Lipinszki, Z., Schneider, S., Lattao, R., Fu, J., Debski, J., Dadlez, M., Glover, D.M. (2014) Plk4 phosphorylates Ana2 to trigger Sas6 recruitment and procentriole formation. *Current Biology : CB*, **24 (21)**: 2526-32.
- [26] Ohta, M., Ashikawa, T., Nozaki, Y., Kozuka-Hata, H., Goto, H., Inagaki, M., Oyama, M., Kitagawa, D. (2014) Direct interaction of Plk4 with STIL ensures formation of a single procentriole per parental centriole. *Nat Commun*, **5**: 5267.
- [27] Cohen, P.T., Philp, A., Vazquez-Martin, C. (2005) Protein phosphatase 4--from obscurity to vital functions. *FEBS Letters*, **579 (15)**: 3278-86.
- [28] Chen, G.I., Tisayakorn, S., Jorgensen, C., D'Ambrosio, L.M., Goudreault, M., Gingras, A.C. (2008) PP4R4/KIAA1622 forms a novel stable cytosolic complex with phosphoprotein phosphatase 4. *The Journal of Biological Chemistry*, **283 (43)**: 29273-84.
- [29] Wurzenberger, C., Gerlich, D.W. (2011) Phosphatases: providing safe passage through mitotic exit. *Nature reviews. Molecular Cell Biology*, **12 (8)**: 469-82.
- [30] Zeng, K., Bastos, R.N., Barr, F.A., Gruneberg, U. (2010) Protein phosphatase 6 regulates mitotic spindle formation by controlling the T-loop phosphorylation state of Aurora A bound to its activator TPX2. *The Journal of Cell Biology*, **191 (7)**: 1315-32.

- [31] Lipinszki, Z., Wang, P., Grant, R., Lindon, C., Dzhindzhev, N.S., D'Avino, P.P., Przewloka, M.R., Glover, D.M., Archambault, V. (2014) Affinity purification of protein complexes from *Drosophila* embryos in cell cycle studies. *Methods in Molecular Biology*, **1170**: 571-88.
- [32] Fu, J., Lipinszki, Z., Rangone, H., Min, M., Mykura, C., Chao-Chu, J., Schneider, S., Dzhindzhev, N.S., Gottardo, M., Riparbelli, M.G., Callaini, G., Glover, D.M. (2016) Conserved molecular interactions in centriole-to-centrosome conversion. *Nature Cell Biology*, **18 (1)**: 87-99.
- [33] Fu, J., Glover, D.M. (2012) Structured illumination of the interface between centriole and peri-centriolar material. *Open Biology*, **2(8)**: 120104.
- [34] Miskei, M., Adam, C., Kovacs, L., Karanyi, Z., Dombradi, V. (2011) Molecular evolution of phosphoprotein phosphatases in *Drosophila*. *PLoS one*, **6 (7)**: e22218.



**Kármán Zoltán** biológus, 2014 első félévében az SZTE Gyógyszeranalitikai Intézet tudományos segédmunkatársaként dolgozott. A 2014 áprilisában Szegeden megrendezett ÁOK-FOK-GYTK-ETSZK TDK Konferencián különdíjat nyert „A humán TRPV1 csatorna C terminális doménjének szerkezeti vizsgálata” című előadásával. A 2016 tavaszán megrendezett Biológia TDK Konferencián „A *Drosophila* spermium proteom legnagyobb mennyiségben előforduló fehérjecsaládjának genetikai vizsgálata” című pályamunkájával szintén különdíjat nyert. M.Sc. diplomáját 2016-ban szerezte az SZTE TTIK biológus szakán. 2016 szeptemberétől a Pszichiátriai Klinika Kutatólaboratóriumában béta-amiloid és egyéb neurotoxikus fehérjeaggregátumok

metabolizmusát vizsgálta kerekeseféreg modellen. 2017 júniusától Ph.D. hallgatóként csatlakozott az MTA SZBK Biokémiai Intézet Lendület Sejtciklus Szabályozás Kutatócsoporthoz.



**Nagy Zsuzsánna** 2014-ben kezdte tanulmányait a kolozsvári Babeş-Bolyai Tudományegyetemen, 2016-ban részt vett az Erasmus+ programban, így lehetősége nyílt egy félévet a Szegedi Tudományegyetemen tanulni, valamint Lipinszki Zoltán csoportjában elsajátítani az alapvető molekuláris biológiai technikákat. 2017-ben fejezi be a biológus B.Sc. képzést Kolozsváron, majd tanulmányait az SZTE biológus M.Sc szakán szeretné folytatni, valamint szeretne kutatni az MTA SZBK Biokémiai Intézet Lendület Sejtciklus Szabályozás Kutatócsoportban.



**Lipinszki Zoltán** a SZTE biológus szakán szerzett diplomát 2006-ban, majd az MTA SZBK Biokémiai intézetében, Udvardy Andor csoportjában védte meg Ph.D. dolgozatát az ubiquitin-függő fehérje degradáció témakörben 2009-ben. FEBS posztdoktori ösztöndíjjal 4 évet töltött a Cambridge-i Egyetemen David Glover csoportjában. 2015 óta tudományos főmunkatárs, az SZBK Biokémiai intézetében a Sejtciklus és Transzkripció Szabályozás Csoport vezetője. 2017-től az MTA SZBK Lendület Sejtciklus Szabályozás Kutatócsoport vezetője. Kutatási témája a mitózis irányítását végző ubiquitilációs és foszforilációs folyamatok feltárása. 2005-ben Pro Scientia Aranyéremet, 2010-ben Junior Prima Díjat és 2015-ben Bolyai Ösztöndíjat kapott. 2007 óta tagja az MBK-nek, 2012 óta a Biochemical Society-nak.