

dc_625_12



MTA doktori értekezés tézisei

Stressz-reszponzív adaptációs mechanizmusok működése és kölcsönhatásai

Dr. Sőti Csaba



Semmelweis Egyetem
Orvosi Vegytani, Molekuláris Biológiai
és Pathobiokémiai Intézet

**Budapest
2013**

TARTALOMJEGYZÉK

ÖSSZEFOGLALÁS	3
BEVEZETÉS	4
A HSP90 BIOKÉMIAI ÉS FUNKCIONÁLIS JELLEMZÉSE	5
CÉLKITŰZÉS.....	5
EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉSÜK.....	6
1. A Hsp90 C-terminális nukleotidkötőhelyének jellemzése	6
2. Ciszplatin hatása a Hsp90-kliens kapcsolatra.....	6
3. A Hsp90 α és β izoformájának funkcionális eltérései.....	6
STRESSZEK ÉS STRESSZVÁLASZOK KÖLCSONHATÁSAINAK VIZSGÁLATA	8
CÉLKITŰZÉS.....	9
EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉSÜK.....	10
1. A chaperon kapacitás és a hősokkválasz változása és szerepe az öregedés során	10
2. Humán cinkszupplementáció hatása limfociták Hsp70 fehérje expressziójára	10
3. A metabolikus szignálok, szirtuin aktiváció és a hősokkválasz kapcsolata	11
4. Inert denaturált modellfehérjék celluláris hatásainak vizsgálata	12
5. Az oxidatív stressz hatása a hősokkadaptációra	13
6. Az SKN-1/Nrf2 szerepe a természetes immunitásban és az immunszeneszcenciában 14	
AZ ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA.....	16
HSP90-NEL KAPCSOLATOS EREDMÉNYEK.....	16
STRESSZVÁLASZOKKAL KAPCSOLATOS EREDMÉNYEK.....	16
KÖZLEMÉNYEK.....	17
AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN MEGJELENT KÖZLEMÉNYEK.....	17
AZ ÉRTEKEZÉSHEZ KÖZVETLENÜL NEM KAPCSOLÓDÓ, PH.D. ÓTA PUBLIKÁLT KÖZLEMÉNYEK.....	19
TUDOMÁNYMETRIAI ADATOK	20
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	21

ÖSSZEFOGLALÁS

A változáshoz (stresszhez) történő alkalmazkodást egy komplex, specializált stresszválaszokra épülő adaptációs mechanizmus segíti. Az öregedés és számos betegség folyamatában az adaptáció elégtelensége figyelhető meg, azonban az egyes stresszválaszok kölcsönhatásai nem tisztázottak. Kutatásaink során különféle stresszadaptációs mechanizmusokat tanulmányoztunk izolált fehérjétől a humán perifériás limfocitáig.

A Hsp90 hősokkfehérje többszáz jelátviteli (kliens) fehérje szerkezetét stabilizálja. A Hsp90 (Ph.D. munkám során azonosított) C-terminális nukleotidkötőhelyének specificitását jellemeztük; megállapítottuk, hogy a C-terminális inhibitor szelektíven gátolja a szteroidreceptor kliensek funkcióját; rámutattunk, hogy a tumorokban túltermelődő humán Hsp90 α a Hsp90 β -nál hatékonyabban működik és Hsp90-inhibitorral szemben ellenállóbb.

A kalóriacsökkentés a leghatékonyabb élettartamnövelő hatás, mely számos adaptációs mechanizmust aktivál, többek között a Sir2 szirtuin metabolikus, a HSF1 fehérje homeosztatikus hősokkválasz és az Nrf2 xenobiotikus stresszválasz mesterregulátorokat. Kimutattuk, hogy idős patkány máj citoszol chaperon kapacitása enyhén csökkent és elméleti és számítógépes modellt alkottunk a fehérje homeosztatikus puffer és a hősokkválasz öregedésben játszott szerepéről; kimutattuk, hogy humán időskori cinkszupplementáció és a kalóriacsökkentés mimetikus resveratrol stimulálja a hősokkválaszt, megerősítettük a HSF1 szerepét a kalóriamegvonás-indukálta élettartamnövekedésben és megcáfoltuk a Sir2 túltermelésének élettartamnövelő hatását *Caenorhabditis elegans*-ban; megfigyeltük a denaturált fehérjeszerkezet funkciótól független, emlős sejtek proliferációjára és stressz-indukálta túlélésre gyakorolt negatív hatását; bizonyítottuk, hogy az oxidatív stressz emlős sejteken és *C. elegans*-ban egyaránt az RNS interferencia közvetítésével gátolja a hősokkadaptációt; valamint feltártuk, hogy az Nrf2 ortológ SKN-1 transzkripció faktor optimális aktivációja szükséges a természetes immunitáshoz, aktivitáscsökkenése pedig részt vesz az immunoszenescenciában *C. elegans*-ban.

Eredményeink összekapcsolják a fehérje homeosztázist, az oxidatív stresszt, a kalória csökkentést, a természetes immunitást valamint az öregedést, ezáltal elősegítik a különféle stresszek és stresszválaszok integratív szemléletét. Az azonosított mechanizmusok az emberi öregedés és a korral kapcsolódó betegségek tekintetében is megállhatják helyüket és új terápiás célpontokat kínálhatnak.

BEVEZETÉS

Az élő szervezet alapvető képessége, hogy érzékelje az egyensúlyából kilendítő környezeti hatásokat és azokra megfelelő módon reagáljon, melynek célja egy új, a megváltozott körülményekkel összhangban levő egyensúlyi állapot kialakítása. A hatásokat – Selye János munkája nyomán – stressznek, az ezt érzékelő és az alkalmazkodást segítő mechanizmusokat stresszválasznak, a folyamatot stresszadaptációnak nevezzük. Az utóbbi évtizedek kutatásai feltárták a stresszválasz(ok) moduláris szerveződését: beszélhetünk antioxidatív, xenobiotikus, genotoxikus, fehérje konformációs (hősokk-), metabolikus, stb. stresszválaszokról. Az enyhe stresszek által kiváltott hatékony stresszadaptáció eredménye azonos illetve eltérő stresszekkel szembeni (kereszt-)tolerancia, míg a túlzott stressz gyengíti az alkalmazkodást. Ezek a keresztthatások komplex, hálózatos szerveződést sejtetnek, melyek működésének molekuláris mechanizmusai és kölcsönhatásai nagyrészt feltáratlanok.

Doktori tézisémet két részből áll: először a Hsp90 molekuláris chaperon biokémiai és funkcionális jellemzésével, majd a hősokkválasz és más stresszek illetve stresszválaszok kölcsönhatásaival és öregedésben játszott szerepével kapcsolatos munkánkat foglalom össze.

A Hsp90 BIOKÉMIAI ÉS FUNKCIONÁLIS JELLEMZÉSE

A 90 kDa molekulatömegű hősokkfehérje (Hsp90) egy konzervált, esszenciális citoszolikus molekuláris chaperon. A sejt összfehérje tartalmának mintegy 2-5%-át alkotja. Két izoformája van, a konstitutívan expresszáldó β és a stresszindukálható α , melyek nagyfokú szekvencia identitást mutatnak, azonban szabályozásuk eltérő. Perifériás sejtekben elsősorban a β izoforma fordul elő, míg intenzíven osztódó, illetve a stresszelt tumorsejtekben az α expressziója erősen indukálódik, így mennyisége a β izoformával összemérhető vagy azt meghaladja. Az eltérő szabályozás és szöveti expresszió funkcionális különbségeket sejtet.

A Hsp90 N-terminális nukleotidkötő, ezt követő flexibilis linker, középső szubsztrátkötő és C-terminális dimerizációs/fehérje interakciós doménből áll. A Hsp90 specifikus chaperon: többszáz termodinamikailag instabil, jelátviteli kulcsmolekula, ún. 'kliens' fehérje (pl. kinázok, transzkripciós faktorok, polimerázok) szerkezetét stabilizálja, melyek szerteágazó biológiai funkcióikat látnak el, és kiemelt szerepet játszanak a sejtproliferációban és túlélésben. Ehhez az N-terminális, GHKL-típusú ATP-kötőhelyének ATPáz aktivitása szükséges. Az N-terminális ATP-antagonista Hsp90-inhibitorok (vezető molekula: geldanamycin) ígéretes specifikus tumor kemoterápiás szerek, azonban a Hsp90 gátlásával a hősokk transzkripciós faktor-1 (HSF1) aktivációja révén rezisztenciához vezetnek. PhD munkám során jellemeztük a Hsp90 chaperon ciklusát moduláló kismolekulákkal illetve ATP-vel való kölcsönhatását. Utóbbi során felfedeztünk egy C-terminális doménen elhelyezkedő nukleotidkötőhelyet, mely az N-terminális kötőhellyel allosztérikus kapcsolatban áll, azonban geldanamycinnel nem, hanem novobiocinnal és ciszplatinnal (CDDP) gátolható.

Célkitűzés

Hsp90-nel kapcsolatos kísérleteink során az alábbi kérdésekre kerestünk választ:

1. Milyen nukleotidspecifitással rendelkezik a Hsp90 C-terminális nukleotidkötőhelye?
2. Milyen hatást fejt ki a C-terminális nukleotidkötőhelyet gátló ciszplatin a Hsp90 kliensfehérje komplexekre?
3. Milyen funkcionális jelentőséggel bír a Hsp90 α és β izoformája?

Eredmények és megbeszélésük

1. A Hsp90 C-terminális nukleotidkötőhelyének jellemzése

A Hsp90 N- és C-terminális nukleotidkötőhelyének jellemzésére a korábban beállított nukleotid-affinitáshasítási módszert és a szilárd fázisú gyantán immobilizált nukleotidokkal történő affinitáskromatográfiás módszert, illetve a kettő kombinációját alkalmaztuk. Timothy Haysteaddal együttműködve megállapítottuk, hogy az N-terminális kötőhely adenin-nukleotidokra (ezek között dinukleotidokra, pl. NAD^+ -ra, illetve alarmonokra) specifikus, míg a C-terminális domén széles specifikitású, mind purin-, mind pirimidin-nukleotidok kötésére képes (Sóti és mtsai, 2003b).

Munkánk azt sugallja, hogy a C-terminális kötőhelynek *in vivo* egyéb kismolekulájú ligandok kötésében is szerepe lehet, és lehetőséget nyújt a C-terminális kötőhelyre specifikus inhibitorok előállítására, melyek az N-terminális domént nélkülöző izoformákra (pl. Hsp90N) is hatékonyak (Sreedhar és mtsai, 2004, Sóti és mtsai, 2005b).

2. Ciszplatin hatása a Hsp90-kliens kapcsolatra

A C-terminális kötőhelyet gátló ciszplatinnak a Hsp90 kliensekre gyakorolt hatását tanulmányozva Theo Rein csoportjával együttműködésben kimutattuk, hogy a ciszplatin koncentrációfüggően gátolja a Hsp90 kliens glukokortikoid és androgén receptor stabilizációját és funkcióját. Ezt a hatást a Hsp90 közvetíti. Ciszplatin nem hatott más Hsp90 kliensekre, így a Ser/Thr-kináz Raf-1-re, a Tyr-kináz Lck-ra. Fontos, hogy ciszplatin nem befolyásolja a hősokk választ és a Hsp90 α expresszióját reguláló hősokk transzkripció faktor-1 (HSF1) transzaktivációját (Rosenhagen és mtsai, 2003).

Eredményeink arra utalnak, hogy a C-terminális kötőhely szelektív gátlása a Hsp90 bizonyos klienseivel kialakított kölcsönhatását gátolja. Mindez illusztrálja a C-terminális kötőhely specifikus funkcióját, továbbá első bizonyítékát adja a annak, hogy a Hsp90-nek bizonyos klienseivel kialakított kölcsönhatása – a hősokkválasz aktiválódásának elkerülésével – terápiásan megcélozható.

3. A Hsp90 α és β izoformájának funkcionális eltérései

Az élesztő egyszerűségét, kiváló genetikai manipulálhatóságát és a Hsp90 funkció nagyfokú konzerváltságát kihasználva Peter Piper csoportjával együttműködve kimutattuk, hogy Hsp90-deficiens élesztő modellrendszerben egyedüli Hsp90-ként kifejezett humán

Hsp90 α és Hsp90 β egyaránt képes az életképességet helyreállítani és kliensekkel komplexeket kialakítani. Azonban a két izoforma funkcionálisan eltér: a Hsp90 α alacsonyabb affinitású (azaz tranziensebb, hatékonyabb) komplexeket alakít ki, jelenléte jóval hatékonyabban aktiválja a hősokkválaszt, segíti elő a v-src Tyr-kináz kliens aktivációját, és nagyságrendekkel ellenállóbb a Hsp90 N-terminális inhibitor radicicollal szemben (Millson és mtsai, 2007).

Eredményeink a humán Hsp90 izoformák eltérő celluláris funkcióira az elsők között adtak bizonyítékot. Mivel a Hsp90 α a tumorokban szelektíven indukálódik és a tumor agresszivitás és rezisztencia számos molekuláris mechanizmusát közvetíti, ezért megfigyeléseink rávilágítanak a tumorok nagyfokú ellenállóképességére, így a Hsp90 α specifikus megcélzása, vagy indukciójának megelőzése fontos kemoterápiás stratégia lehet.

STRESSZEK ÉS STRESSZVÁLASZOK KÖLCSÖNHATÁSAINAK VIZSGÁLATA

A fehérje konformációs homeosztázist, így a sejt fehérjehálózatát a fehérje homeosztatisztikus puffer tartja karban, mely a hősokkválasz köré szerveződik. Hősokkfehérjék (Hsp-k, vagy molekuláris chaperonok) segítik a fehérjék feltekeredését, a komplexek összeszerelődését, transzportját, és ismerik fel a nem-natív szerkezetű fehérjéket, melyeket helyreállítanak vagy a proteaszómális illetve autofág lebontás útjára, illetve az aggregáció felé segítene. A Hsp90-központú chaperon komplex többszáz instabil szerkezetű jelátviteli kulcsmolekula szerkezetét stabilizálja, a sejt legtöbb kapcsolattal rendelkező fehérjei közé tartozik, így a celluláris jelátviteli folyamatok zavartalan működését teszi lehetővé (ld. később). A proteotoxikus stressz következtében felszaporodó denaturált fehérjéket megkötik a fő citoszolikus Hsp90 és Hsp70 chaperonok, és gátló komplexükből elengedik a hősokk transzkripciós faktort-1- (HSF1)-et. Az aktiválódó HSF1 indukálja a hősokk-gének, illetve szabályozza a sejt önfenntartását és növekedésében érintett gének (a genom mintegy 3-4%-a) expresszióját, mely erősíti az ellenállóképességet és az immunitást. Ezáltal a hősokkválasz az akut túlélés és betegségekkel szembeni ellenállóképesség egyik fontos általános tényezője.

Az öregedés az élő szervezet funkcióinak progresszív csökkenése. Az öregedéstudományok genetikai programot (celluláris szenescencia: Hayflick-szabály, gerontogének), a hibák random, ill. oxidatív stressz-okozta halmozódását (mutáció-akkumuláció és hibakatasztrófa elmélet, szabadgyök-teória) helyezték előtérbe. Öregedés során megfigyelhető az oxidatív stressz és károsodások (pl. sérült fehérjék) mennyiségének növekedése. A sérült fehérjék a posztmitotikus sejtekben öregedés-szerű sorvadást okoznak (pl. mutáns fehérjék okozta neurodegeneratív betegség). Azonban az öregedés a változáshoz történő alkalmazkodás csökkenéseként is értelmezhető, melyre az előző elméleteket magába ölelő kísérleti bizonyítékot a stresszválaszok (hősokkválasz, immunválasz, egyéb önfenntartó mechanizmusok) válaszkészségének korral járó csökkenése, illetve a stressztolerancia és az élettartam közötti optimumkorreláció szolgáltat. Ez felveti annak lehetőségét, hogy a stresszválaszok, pl. a hősokkválasz farmakológias aktivációja célpont lehet az egészséges élettartam megnyújtásában és a degeneratív civilizációs betegségek (elhízás, diabétesz, kardiovaszkuláris és neurodegeneratív betegségek, immunproblémák) megelőzésében és kezelésében.

A kalóriacsökkentés, a kalóriabevitel mérsékelt (30-40%-os) csökkentése az eddig ismert leghatékonyabb, emlős modelleken is igazolt élettartamnövelő környezeti hatás. Az

inzulin szignálon túl a kalóriacsökkentés sejtszintű közvetítőjeként a 2000-es évek elején a metabolikus szenzor szirtuin (Sir2) NAD⁺-függő deacetilázt azonosították. Szirtuin túltermelő élesztő, fonálféreg és ecetmuslica törzsek élettartama megnövekedett, így a szirtuin aktiváció ígéretes humán élethossznövelő farmakológiás célponttá vált. Ezzel egyidőben az eredetileg rákellenes hatásáról ismert polifenol resveratrolban az első élettartamnövelő kismolekulát fedezték fel, mely hatékonynak bizonyult az élesztőtől a túltáplált egerekig. A resveratrolról bizonyították, hogy a Sir2 deacetiláz aktivitását serkenti és a kalóriacsökkentéshez hasonló anyagcsere- és génexpressziós hatásokat hoz létre. Ezen túl a kalóriacsökkentés aktivál egyéb stressz-reszponzív pályákat, pl. indukálja az antioxidáns választ, a hősokkfehérjéket, és a xenobiotikus regulátor Nrf2 transzkripciós faktort. Az erőteljes és koordinált változások azt sugallják, hogy a kalóriacsökkentés egy enyhe metabolikus stresszhatás által egy szervezeti szinten összehangolt önfenntartó program aktivációja az erőforrások szűkössé válásakor, így megértésével, egyéb stresszválaszokkal történő kapcsolatainak feltárásával közelebb juthatunk az egészséges élettartam meghosszabbításához.

A megfelelő immunitás szükséges az akut túléléshez és hozzájárul az egészséges élettartam kialakításához. Az öregedés egyik legmarkánsabb velejárója a gyengülő hatékony immunválasz és erősödő gyulladásos tendencia kombinációjaként jellemezhető immunszenescencia. A kalóriacsökkentés serkenti az immunműködést és késlelteti az immunszenescenciát. Az immunválasz is felfogható egy szervezeti veszélyt érzékelő komplex stresszválaszként (Matzinger-hipotézis), azonban a szervezet önfenntartó stresszválaszaival való kapcsolata nem teljesen tisztázott.

Célkitűzés

Stresszválaszokkal kapcsolatos kutatásaink során az alábbi kérdésekre kerestünk választ:

1. Hogyan változik a chaperon kapacitás előrehaladott korban? Mi a hősokkválasz és fehérje homeosztázis szerepe az öregedés során?
2. Hogyan hat a humán időskori cinkszupplementáció a perifériás limfociták hősokkválaszára?
3. Milyen kapcsolat van a metabolikus szignálok aktivációja (kalória megvonás, resveratrol, genetikai szirtuin aktiváció) és a hősokkválasz valamint az élettartam között?
4. Milyen hatást fejtenek ki a denaturált (instabil szerkezetű) fehérjék, funkciójuktól függetlenül a fehérje homeosztázisra és a sejtfunkcióra?
5. Hogyan és milyen mechanizmussal hat az oxidatív stressz a hősokkadaptációra?

6. Mi a szerepe az enyhe stresszeknek és a xenobiotikus stresszválasz regulátor Nrf2 ortológ SKN-1-nek a természetes immunitásban és az immunoszenescenciában?

Eredmények és megbeszélésük

1. A chaperon kapacitás és a hősokkválasz változása és szerepe az öregedés során

A hősokkválasz indukálhatósága az öregedés során csökken, azonban a chaperonok fehérje denaturációtól védő hatékonysága munkánk kezdetekor ismeretlen volt. Hőérzékeny luciferáz modellfehérjét felhasználva elsőként vizsgálva a citoszolikus teljes chaperon kapacitást kimutattuk, hogy globális fehérje denaturációt nem okozó körülmények között (39°C) idős (26 hónapos) patkány máj citoszol preparátumok passzív chaperon (fehérje denaturációt és aggregációt gátló) kapacitása fiatal (10 hetes) állatokhoz képest enyhén csökkent. A két fő citoszolikus chaperon közül a Hsp70 mennyisége nem változott, a Hsp90 mennyisége csökkent (Nardai és mtsai, 2002). A csökkenés hátterében akár a luciferázt stabilizáló Hsp90 szint csökkenése, esetleg oxidált-denaturált fehérjék (köztük a módosult chaperonok) korral járó mérsékelt növekedése állhat.

A sejt és szervezeti öregedés egyik tényezője az aminosavakat módosító, így a fehérje konformációt károsító proteotoxikus stresszek és a fehérje homeosztázis karbantartásában fontos szerepet játszó chaperonok kapacitásának egyensúlytalansága. Ennek modellezésére megalkottuk a „Chaperon túlterhelés” modellt (Sőti és Csermely, 2003), majd ezt kibővítve a az „Öregedés fehérje homeosztázis hipotézisét” (Sőti és mtsai, 2003a; Arslan és mtsai, 2006; Sőti és Csermely 2007b). Ezeknek az információknak a felhasználásával Tom Kirkwood csoportjával együttműködésben egy számítógépes szimulációs modellt fejlesztettünk ki (Proctor és mtsai, 2005). Ezeken túl rámutattunk a chaperonok sejt hálózatában betöltött szervező szerepére, farmakológiai jelentőségére és az öregedés hálózatos modelljében elfoglalt helyére (Sőti és mtsai, 2005a és b; Csermely és Sőti 2006; Sőti és Csermely 2007a).

2. Humán cinkszupplementáció hatása limfociták Hsp70 fehérje expressziójára

A cink, mint nyomelem számos fehérje és enzim integritásához nélkülözhetetlen, így fontos szerepet játszik a sejtproliferációban, a genetikai stabilitásban és az antioxidatív védelemben és az immunválaszban. Idős emberek cinkstátusza és immunfunkciója romlik. Tanulmányunkban, Eugenio Mocchegiani csoportjával együttműködve, idős (64-85 év

közötti) emberek középtávú cink (10 mg/nap, 48 napig) táplálékkiegészítésének hatását vizsgáltuk áramlási citometriával a humán perifériás vérsejtek fő hősokkválasz markerének, a Hsp70 fehérjének mind alap, mind hőindukált expressziójára. Megállapítottuk, hogy a Hsp70 alap és hőindukált szintje – a kiegészítés előtti állapothoz, illetve a nem szupplementált kontroll csoporthoz képest – szignifikánsan növekedett mind az össz-, a CD3+ (T-sejt) és CD3- populációkban. A Hsp70 szintek szignifikánsan magasabbak voltak a magas cink elérhetőséggel rendelkező csoportban (Putics és mtsai, 2008a). Eredményeink felvetik a hősokkválasz szerepét a cinkdeficiencia és cinkpótlás immunrendszerre és immunszeneszcenciára kifejtett hatásaiban.

3. *A metabolikus szignálok, szirtuin aktiváció és a hősokkválasz kapcsolata*

A növényi stresszhatásra termelődő fitoalexin resveratrol hősokk adaptációra kifejtett hatását vizsgálva emlős sejtkultúrán és humán limfocitákon beláttuk, hogy aktiválja a HSF1-függő transzaktivációt és Hsp70 fehérje expressziót. Ez az aktiváció a citoszolikus hősokkválaszra specifikus, az endoplazmatikus retikulum stresszválaszt (UPR) nem érinti és a hatást nem antioxidáns hatása közvetíti. Resveratrol előkezelés letális hőstressz elleni fokozott védelmet biztosít (Putics és mtsai, 2008b). Mindez felveti, hogy a hősokkválasz a resveratrol, és talán a kalóriacsökkentés élettartamnövelő hatásának egyik közvetítője. Ezeket a hipotéziseinket az ezidőtájt létrehozott *Caenorhabditis elegans* laboratóriumunkban kezdtük el tanulmányozni.

A hősokkválasz, metabolikus stressz és kalória csökkentés kapcsolatának áttekintése mellett közöltük azon eredményeinket, melyek egy amerikai kutatócsoporttól függetlenül megerősítik, hogy a teljes kalóriamegvonás a HSF1 jelenlététől függő élettartam növelő hatással rendelkezik *C. elegans*-on. Megállapítottuk, hogy a kalóriamegvonás nem igényli a klasszikus metabolikus szenzor AMP-függő fehérje kináz és Sir2 ortológokat. A HSF1-függő élettartam növekedés a 20 fokos neutrális hőmérséklet alatt és felett egyaránt megfigyelhető volt (Dancsó és mtsai, 2010). Ez felveti a kalóriamegvonás és a HSF1 klasszikus metabolikus jelátviteltől és fehérje homeosztázistól független szerepét az élettartam növekedésben.

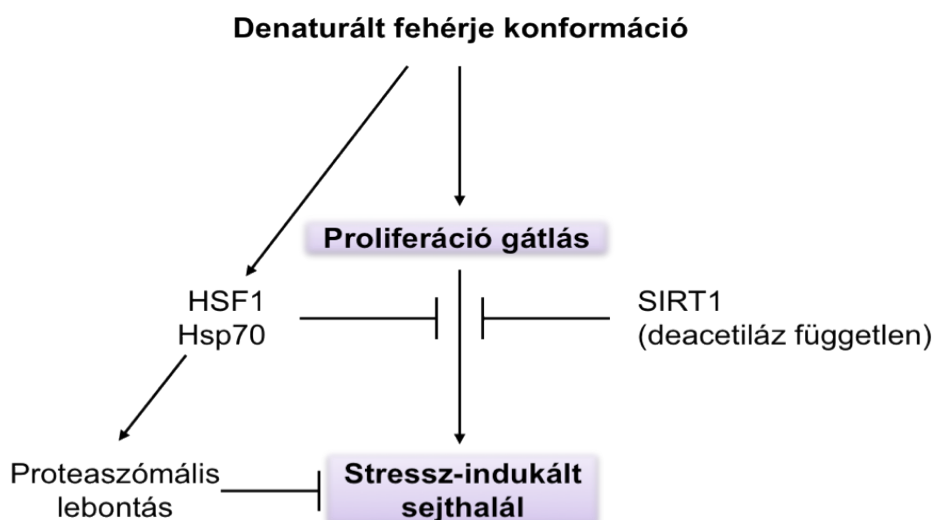
További eredményeink igazolni látszottak, hogy a resveratrol és a szirtuin magas kópiaszámban történő túltermelésének élettartamnövelő hatását *C. elegans*-ban a HSF1 közvetíti (Tóth és mtsai, 2008, 2009 konferencia absztraktok; Dancsó és mtsai, 2010). Ezzel egyidőben anekdotikus hírekre hivatkozva és saját kísérletek kapcsán David Gems kételyeit fejezte ki a szirtuin túltermelés élettartamnövelő hatásával kapcsolatban, ezért a kérdés

megnyugtató tisztázására együttműködésbe kezdtünk. Mindkét, az irodalomban szereplő, egy magas és egy alacsony kópiaszámú *sir-2.1* (Sir2 ortológ) transzgen fonálféreg törzset egymástól függetlenül a megfelelő genetikai háttérrel visszakereszteltünk. A téma kiemelt fontosságára tekintettel kölcsönös látogatások során mindkét laboratóriumban mindkét fél által végrehajtott kettősvak kísérleteket végeztünk. A *C. elegans* SIR-2.1 túltermelés élettartamnövelő hatása a visszakeresztelés után eltűnt, melyet nemzetközi együttműködő partnereink is megerősítettek. Egyúttal kimutattuk, hogy az eredeti kísérletekben tapasztalt élettartam növekedés háttér mutációval kapcsolódott, míg Linda Partridge csoportja ecetmuslicában bizonyította, hogy a Sir2 transzgen élettartamnövelő hatása a transzgen konstrukciónak tulajdonítható (Burnett és mtsai, 2011).

Eredményeink a korábbi tanulmányokkal szemben megkérdőjelezik a Sir2 túltermelés élettartamnövelő hatását két gerinctelen modell organizmuson, egyúttal felhívják a figyelmet a genetikai háttér és a potenciális mutációk megfelelő ellenőrzésére.

4. Inert denaturált modellfehérjék celluláris hatásainak vizsgálata

A rosszul feltekeredő („misfolded”) fehérje szerkezet alapvető szerepet játszik a konformációs betegségekben és az öregedésben, azonban hogy ennek oka mennyiben a kitekert szerkezetű fehérje funkcióvesztése és a keletkező kóros szerkezetű toxikus molekulák funkciónyerése, nem tisztázott. Ennek vizsgálatára létrehoztunk két független, az eukarióta sejtben funkcióval nem rendelkező 'inert' fehérjemolekula destabilizált konformációs mutánsának GFP-fúziós változatát, hogy izoláltan megvizsgáljuk a funkciónyerés hatásait. A GFP-degron és a GFP-Δ9CAT egyaránt kitekert fehérjeként viselkedett: jó részüket a sejt proteasomális degradációval eliminálta, az erre nem képes sejtekben perinukleáris aggregátumokat képeztek, ahol kolokalizáltak a chaperon Hsp70-nel és indukálták expresszióját. Egyik fehérje sem okozott számottevő sejtpusztulást stresszmentes körülmények között, azonban mindkét fehérje sejtproliferáció gátlást okozott és fokozta a proteotoxikus stressz- (hősokk és proteaszóma inhibitor MG132) indukálta sejthalált. A sejthalált akár a HSF1 és Hsp70, illetve a vad és deacetiláz deficiens H363Y pontmutáns SIRT1 szirtuin túltermelése egyaránt képes volt, míg a SIRT6 paralóg nem volt képes megelőzni. Eredményeink a szirtuinok differenciációját és a SIRT1 nem-katalitikus hatásmechanizmusát sugallják, így az enzimaktivitást (és az anyagcserét) nem befolyásoló terápiás célpontot nyújthat (Arslan és mtsai, 2012; *1. ábra*).



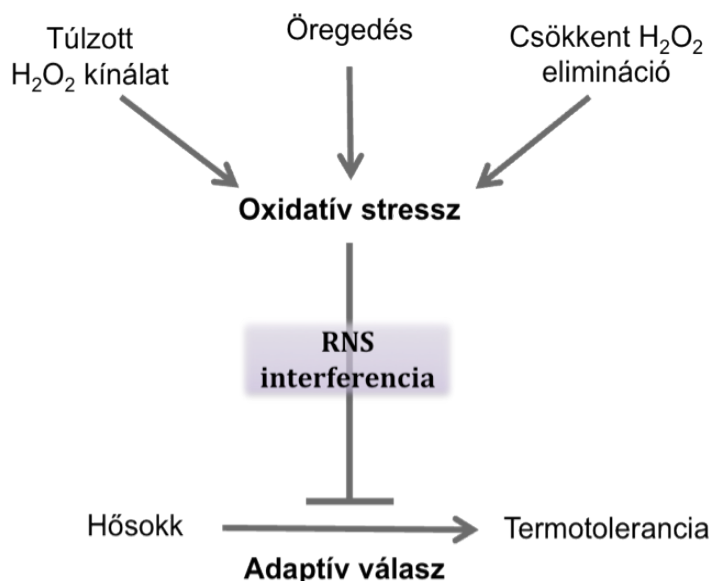
1. ábra A denaturált fehérje konformáció celluláris hatásai

Megfigyeléseink igazolják, hogy egyetlen, az összfehérjék 1-2%-át kitevő, inert denaturált fehérje expressziója a sejtre nem toxikus, azonban az azt lebontani képtelen sejtekben elegendő, hogy gátolja a sejtproliferációt (növekedést) és a stresszadaptációt, azaz az öregedő/szeneszcens sejtekre jellemző viselkedést vált ki (ld. Söti és mtsai, 2003a). A SIRT1 protektív hatása a metabolikus a fehérje homeosztatikus válaszok keresztkapcsolatára utal. Vizsgálataink létrehozta egy új emlős modellt és rávilágítanak a denaturált fehérjeszerkezet funkciótól független hatásaira.

5. Az oxidatív stressz hatása a hő sokkadaptációra

A fokozott oxidatív stressz kóroki szerepet játszik számos betegségben és az öregedésben, és hatásaiért elsősorban az általa okozott molekuláris károsodást teszik felelőssé. Emlős sejteken és *C. elegans* fonálférgen végzett kísérleteinkben az oxidatív hatású H_2O_2 hő sokkadaptációra kifejtett hatását Bart Braeckmannal együttműködve tanulmányoztuk. H_2O_2 előkezelés egyaránt gátolta a Hsp70 expressziót és a hő indukált termotoleranciát emlős sejtekben illetve a hő indukált termotoleranciát *C. elegans* fonálféregben. Ezt a hatást a mikroRNS kötésben szerepet játszó Hsp70 3'UTR riporter konstrukció aktivációjával és a mikroRNS metabolizmusban kulcsszerepet játszó DCR-1/Dicer csendesítésével kapott eredmények szerint az RNS-interferencia közvetíti. Fonálféregben mind *dcr-1*, mind másik kulcsenzim PASH-1/Drosha csendesítés visszaállítja az endogén peroxid-turnoverben

deficiens *ctl-2* kataláz és *prdx-2* peroxiredoxin mutáns fonálférgek termotoleranciáját, illetve késlelteti az öregedő fonálférgek termotolerancia csökkenését (Spiró és mtsai, 2012; 2. ábra).



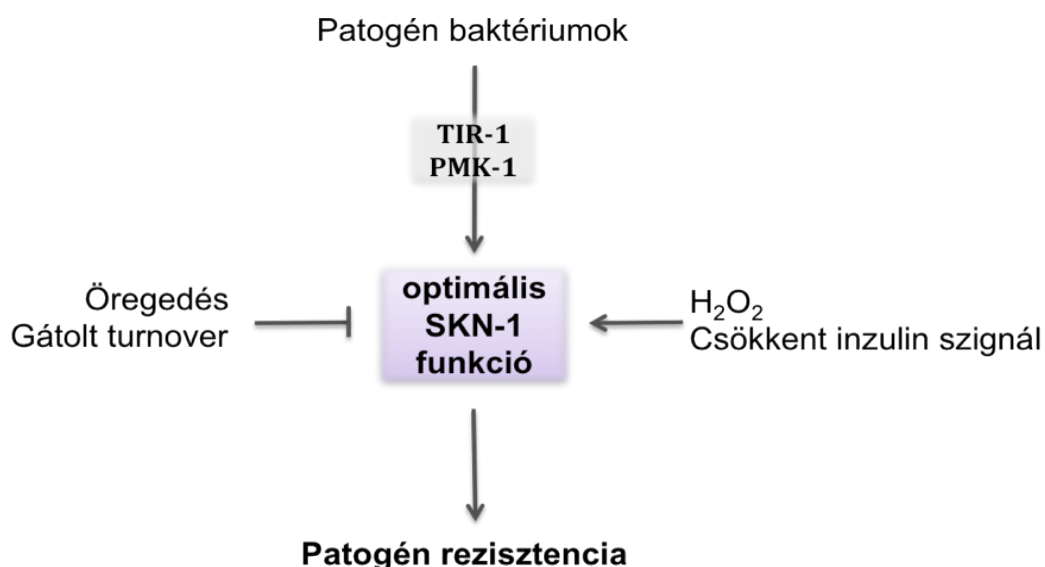
2. ábra Az oxidatív stressz hatása a hőshockadaptációra

Eredményeink feltárnak egy szabályozott, az RNS interferencia révén megvalósuló keresztkapcsolatot, mely hozzájárulhat az oxidatív stressz potenciális hatásaihoz betegségekben és az öregedés során. A keresztgátlás jelentősége egyelőre ismeretlen, de egy adaptációt segítő stresszválasz független stressz általi gyengítése példát ad a komplex rendszerek működése kapcsán fellépő túlzott kooperáció öregítő hatására (Kiss és mtsai, 2009). Az RNS interferencia, illetve a résztvevő, azonosítandó mikroRNS-ek új terápiás célpontokat kínálhatnak.

6. Az *SKN-1/Nrf2* szerepe a természetes immunitásban és az immunszenescenciában

A természetes immunitás kiváló modellje a *C. elegans* fonálféreg, egyszerű immunrendszerén túl azért is, mert számos humán fakultatív patogénnel való kölcsönhatását és az ellenük kialakított rezisztenciát és immunválaszt tudjuk rajta tanulmányozni. Az utóbbi időben derült fény arra, hogy a megfelelő természetes immunitás az antimikrobiális effektorokon túl a gazdaszervezet épségét megőrző-helyreállító mechanizmusokra is támaszkodik. Ilyen mechanizmus a xenobiotikus stresszválasz, mely a szervezetre potenciálisan káros anyagokat, pl. oxidatív vagy elektrofil ágenseket közömbösít. Ennek mesterregulátora az *SKN-1/Nrf2* transzkripciós faktor. Kísérleteink során kimutattuk, hogy

enyhe oxidatív (H_2O_2) és metabolikus (csökkent inzulin jelátvitel) stresszek fokozzák a humán opportunistá patogén *Pseudomonas aeruginosa* elleni patogén rezisztenciát, melyekhez az SKN-1 jelenléte szükséges. SKN-1 hiányos fonálférgek csökkent túlélést mutatnak mind a Gram-negatív *P. aeruginosa*, mind Gram-pozitív *Enterococcus faecalis* baktériumokon. *P. aeruginosa* hatására az intesztinális SKN-1 nukleáris transzlokációja és transzaktivációja következik be, melyhez szükség van a TIR-1 adapter és PMK-1/p38 MAP kináz fehérjékre és egy eleddig ismeretlen tényezőre. Az SKN-1 transzkripciós aktivitása az életkor előrehaladtával már a reprodukzív időszak alatt drasztikusan csökken, és a korral csökkenő expressziót mutató SKN-1-függő gének között túlreprezentáltak a *P. aeruginosa* fertőzés által regulált gének. Az SKN-1 turnoverének gátlásával létrehozott excesszív aktivációja azonban – ugyan fokozza az oxidatív rezisztenciát – de csökkenti a patogén rezisztenciát (Papp és mtsai, 2012; 3. ábra).



3. ábra Az SKN-1 szerepe a patogén rezisztenciában

Eredményeink feltárják a xenobiotikus stresszválasz regulátor SKN-1 fehérje természetes immunitásban és immunosenescenciában játszott szerepét, melynek a humán immunitásban és immun-öregedésben is szerepe lehet. Az SKN-1 túlaktivációjának patogén rezisztenciára kifejtett antagonisztikus hatása illusztrálja az erőforrások optimális allokációjával fellépő konfliktust, ami az oxidatív stressz öregedés-oka hatásának kivédése révén gyengítheti a patogén rezisztenciát (Kiss és mtsai, 2009). Az SKN-1/Nrf2 új terápiás stratégia illetve screen célpontja lehet.

AZ ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

Hsp90-nel kapcsolatos eredmények

1. Jellemeztük a Hsp90 C-terminális nukleotidkötőhelyét és megállapítottuk, hogy széles nukleotid-specificitással rendelkezik.
2. Kimutattuk, hogy a Hsp90 C-terminális kötőhelyét gátló ciszplatin szelektíven gátolja a szteroid receptor kliensek stabilizációját, és nem érinti a Hsp90 kinázokkal és HSF1-gyel alkotott komplexeit.
3. A humán Hsp90 α és β funkcionális jellemzése során rávilágítottunk a Hsp90 α hatékonyabb chaperon működésére és fokozott Hsp90-antagonista radicollal szembeni rezisztenciájára.

Stresszválaszokkal kapcsolatos eredmények

4. Kimutattuk, hogy idős patkány májból izolált citoszol chaperon kapacitása enyhén csökkent.
5. A fehérje homeosztatikus puffer, a hősokkválasz és az öregedés kapcsolatáról elméleti és számítógépes szimulációs modelleket alkottunk.
6. Megállapítottuk, hogy az időskori humán cinkszupplementáció stimulálja a perifériás limfociták alap és hőindukált Hsp70 expresszióját.
7. Kimutattuk, hogy a kalória csökkentés-mimetikum resveratrol emlős sejtekben aktiválja a hősokkválaszt.
8. Rámutattunk, hogy a kalória megvonás *C. elegans*-ban hőmérsékletfüggetlenül és HSF1-függő módon hosszabbítja meg az élettartamot.
9. Két szirtuin túltermelő transzgén *C. elegans* törzsben igazoltuk, hogy nem a szirtuin túltermelés növeli meg az élettartamot, hanem a genetikai háttérben található mutáció.
10. Létrehoztunk két emlős modellt az inert denaturált fehérjék funkciótól független hatásainak vizsgálatára és kimutattuk, hogy a denaturált szerkezet gátolja a sejtproliferációt és a stresszadaptációt, melyet a hősokkválasz és a SIRT1 szirtuin túltermelése kivéd.
11. Felderítettük, hogy az oxidatív stressz emlős sejtekben és *C. elegans*-ban az RNS interferencia közvetítésével gátolja a hősokkadaptációt.
12. Feltártuk, hogy a xenobiotikus regulátor SKN-1/Nrf2 transzkripciós faktor optimális aktivációja szükséges a természetes immunitáshoz, aktivitáscsökkenése pedig részt vesz az immunoszeneszcenciában *C. elegans*-ban

Az értekezés témakörében megjelent közlemények

1. Nardai G, Csermely P, **Sóti C.** (2002) Chaperone function and chaperone overload in the aged. A preliminary analysis. *Exp. Gerontol.* **37**: 1255-1260 (**IF: 3.535**).
2. Rosenhagen M.C., **Sóti C.**, Schmidt U., Wochnik G.M., Hartl F.U., Holsboer F., Young J.C., Rein T. (2003) The heat shock protein 90-targeting drug cisplatin selectively inhibits steroid receptor activation. *Mol. Endocrinol.* **17**: 1991-2001 (**IF: 5.708**).
3. **Sóti C.**, Csermely P. (2003) Ageing and molecular chaperones. *Exp. Gerontol.* **10**: 1037-1040 (**IF: 2.857**).
4. **Sóti C.**, Sreedhar A.S., Csermely P. (2003a) Apoptosis, necrosis and cellular senescence: chaperone occupancy as a potential switch. *Aging Cell* **2**: 39-45 (**IF: 2.118**).
5. **Sóti C.**, Vermes A, Haystead TA, Csermely P. (2003b) Comparative analysis of the N- and C-terminal ATP-binding sites of Hsp90: a distinct nucleotide specificity of the C-terminal ATP-binding site. *Eur. J. Biochem.* **270**: 2421-2428 (**IF: 3.001**).
6. Sreedhar AS, **Sóti C.**, Csermely P. (2004) Inhibition of Hsp90: a new strategy for inhibiting protein kinases. *Biochim. Biophys. Acta* **1697**: 233-242 (**IF: 2.113**).
7. Proctor CJ, **Sóti C.**, Boys RJ, Gillespie CS, Shanley DP, Wilkinson DJ, Kirkwood TBL. (2005) Modelling the actions of chaperones and their role in ageing. *Mech. Aging Dev.* **126**: 119-131 (**IF: 2.812**).
8. **Sóti C.**, Pál C, Papp B, Csermely P. (2005a) Molecular chaperones as regulatory elements of cellular networks. *Curr. Opin. Cell Biol.* **17**: 210-215 (**IF: 15.426**).
9. **Sóti C.**, Nagy E, Giricz Z, Vigh L, Csermely P, Ferdinándy P. (2005b) Heat shock proteins as emerging therapeutic targets. *Br. J. Pharmacol.* **146**: 769-780 (**IF: 3.410**).
10. **Sóti C.**, Csermely P. (2006) Pharmacological modulation of the heat shock response. In: Molecular chaperones in health and disease (ed. M. Gaestel). *Handbook of Experimental Pharmacology* **172**: 417-436 Springer Verlag, Berlin (**IF: -**)
11. Arslan A, Csermely P, **Sóti C.** (2006) Protein homeostasis and molecular chaperones in aging. *Biogerontology* **7**: 383-389 (**IF: 2.125**).

12. Millson SH, Truman AW, Rácz A, Hu B, Panaretou B, Nuttall J, Mollapour M, **Sőti C**, Piper PW. (2007) Expressed as the sole Hsp90 of yeast, the alpha and beta isoforms of human Hsp90 differ with regard to their capacities for activation of certain client proteins, whereas only Hsp90beta generates sensitivity to the Hsp90 inhibitor radicicol. *FEBS J.* **274**: 4453-4463 (**IF: 3.396**).
13. **Sőti C**, Csermely P. (2007a) Aging cellular networks: chaperones as major participants. *Exp. Gerontol.* **42**: 113-119 (**IF: 2.879**).
14. **Sőti C**, Csermely P. (2007b) Protein stress and stress proteins: implications in aging and disease. *J. Biosci.* **32**: 511-515 (**IF: 1.355**).
15. Putics Á, Vödrös D, Malavolta M, Mocchegiani E, Csermely P, **Sőti C**. (2008a) Zinc supplementation boosts the stress response in the elderly: Hsp70 status is linked to zinc availability in peripheral lymphocytes. *Exp. Gerontol.* **43**: 452-461 (**IF: 3.283**).
16. Putics Á, Végh EM, Csermely P and **Sőti C**. (2008b) Resveratrol induces the heat shock response and protects human cells from severe heat stress. *Antiox. Redox Signal.* **10**: 65-75 (**IF: 6.190**).
17. Kiss HJM, Mihalik Á, Nánási T, Öry B, Spiró Z, **Sőti C**, Csermely P. (2009). Ageing as a price of cooperation and complexity: self-organization of complex systems causes the ageing of constituent networks. *Bioessays* **31**: 651-664 (**IF: 5.125**).
18. Dancsó B, Spiró Z, Arslan MA, Nguyen MT, Papp D, Csermely P, **Sőti C**. (2010) The heat shock connection of metabolic stress and dietary restriction. *Curr. Pharm. Biotechnol.* **11**: 139-145 (**IF: 3.455**).
19. Burnett C, Valentini S, Cabreiro F, Goss M, Somogyvári M, Piper MD, Hoddinott M, Stutphin GL, Leko V, McElwee JJ, Vazquez-Manrique RP, Orfila A-M, Ackerman D, Au C, Vinti G, Riesen M, Howard K, Neri K, Bedalov A, Kaeberlein M, **Sőti C**, Partridge L, Gems D. (2011) Absence of effects of Sir2 overexpression on lifespan in *C. elegans* and *Drosophila*. *Nature* **477**: 482-485 (**IF: 36.280**).
20. Arslan MA, Chikina M, Csermely P, **Sőti C**. (2012) Misfolded proteins inhibit proliferation and promote stress-induced death in SV40-transformed mammalian cells. *FASEB J.* **26**: 766-777 (**IF: 5.712**).
21. Spiró Z, Arslan MA, Somogyvári M, Nguyen MT, Smolders A, Dancsó B, Németh N, Elek Z, Braeckman B, Csermely P, **Sőti C**. (2012) RNA interference links oxidative stress to the inhibition of heat stress adaptation. *Antiox. Redox Signal.* **17**: 890–901 (**IF: 8.456**).

22. Papp D, Csermely P, **Sőti C.** (2012) A role for SKN-1/Nrf in pathogen resistance and immunosenescence in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS Pathog.* **8**: e1002673 (IF: 9.127).

Az értekezéshez közvetlenül nem kapcsolódó, Ph.D. óta publikált közlemények

1. Csermely P, Nardai G, **Sőti C.** (2002) Redox regulation in protein folding and chaperone function, In: Redox regulation (eds.: A. Pompella, G. Bánhegyi and M. Wellman-Rousseau), NATO Science Series, I/347, 273-280 (IF: -).
2. Csermely P, **Sőti C.**, Kalmar E, Papp E, Pato B, Vermes A, Sreedhar AS. (2003) Molecular chaperones, evolution and medicine. *J. Mol. Struct. Theochem.* **666-667**: 373-380 (IF: 1.027).
3. Papp E, Nardai G, **Sőti C.**, Csermely P. (2003) Molecular chaperones, stress proteins and redox homeostasis. *Biofactors* **17**: 249-257 (IF: 1.852).
4. **Sőti C.**, Nardai G, Csermely P. (2003) Stresszfehérjék az orvostudományban. *Orvosi Hetilap* **144**: 605-611 (IF: -).
5. **Sőti C.**, Csermely P. (2003) Alacsony affinitású, nem konvencionális ligandkötőhelyek megközelítése nem tradicionális módszerekkel: a Hsp90 ATP kötőhelyeinek analízise. *Biokémia* **27**: 2-7 (IF: -).
23. Csermely P, **Sőti C.** (2006) Cellular networks and the aging process. *Arch. Physiol. Biochem.* **112**: 60-64 (IF: -).
6. Csermely P, **Sőti C.** (2006) Az öregedésről – a hálózatok szemszögéből. *Magyar Tudomány* **167**: 1309-1312 (IF: -).
7. Daniel S, **Sőti C.**, Csermely P, Bradley G, Blatch G. (2006) Hop: an Hsp70/90 chaperone that functions within and beyond Hsp70-Hsp90 folding pathways. In: Networking of chaperones by co-chaperones (szerk.: G. Blatch), pp. 26-37. Springer Verlag (IF: -).
8. Csermely P, Blatch G, **Sőti C.** (2006) Chaperones as parts of cellular networks. In: Molecular aspects of the stress response: chaperones, membranes and networks (szerk.: Csermely, P. és Vigh L.). *Advances in Experimental Medicine and Biology* 594, pp. 55-63. Springer Science+Business Media, LCC and Landes Bioscience/Eurekah.com (IF: 0.663).
9. Fábíán TK, Fejérdy P, Nguyen MT, **Sőti C.**, Csermely P (2007) Potential immunological functions of salivary Hsp70 in mucosal and periodontal defense mechanisms. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* **55**: 1–8 (IF: 1.689).

10. Csermely P, Korcsmáros T, Kovács IA, Szalay MS, **Sőti C.** (2008) Systems biology of molecular chaperone networks. In: The biology of extracellular molecular chaperones. Novartis Foundation Symposium Series Vol. 291, Wiley, pp. 45-58 (**IF: -**).
11. Daniel S, Bradley G, Longshaw VM, **Sőti C**, Csermely P, Blatch GL. (2008) Nuclear translocation of the phosphoprotein Hop (Hsp70/Hsp90 organizing protein) occurs under heat shock, and its proposed nuclear localization signal is involved in Hsp90 binding. *Biochim. Biophys. Acta* **1783**: 1003-1014 (**IF: 4.893**).
12. Mocchegiani E, Malavolta M, Giacconi R, Cipriano C, Costarelli L, Muti E, Tesei S, Giuli C, Papa R, Marcellini F, Mariani E, Rink L, Herbein G, Fulop T, Monti D, Jajte J, Dedoussis G, Gonos ES, Buerkle A, Friguet B, Mecocci P, Colasanti M, **Sőti C**, Mazzatti D, Blasco M, Aspinall R, Pawelec G. (2008) Zinc, metallothioneins, longevity: effect of zinc supplementation on antioxidant response: a Zincage study. *Rejuvenation Res.* **11**: 419-423 (**IF: 5.008**).
13. Ádori C, Andó RD, Balázsa T, **Sőti C**, Vas S, Palkovits M, Kovács GG, Bagdy G. (2011) Low ambient temperature reveals distinct mechanisms for MDMA-induced serotonergic toxicity and astroglial Hsp27 heat shock response in rat brain. *Neurochem. Int.* **59**: 695-705 (**IF: 2.857**).

Tudománymetriai adatok

Kumulatív impakt faktor: 173,4

Teljes idézettség (összes/független): 2252/2051

h-index (összes/független): 22/22

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetemet szeretném kifejezni mindazoknak, akik hozzájárultak eddigi életutam és tudományos pályám alakulásához, és elnézést kérek mindazoktól, akiket itt név szerint nem említek. Számos általános- és középiskolai tanárom bizalmát éreztem. Selmeczi Lászlóval a Kórélettani Intézet diákköröseként dolgozhattam és részesülhettem a tudomány iránti lelkesedéséből és alázatából. Somogyi János az Orvosi Vegytani Intézetben laboratóriumába befogadott, hálás vagyok megbecsüléséért, beszélgetéseinkért. Mentoromnak, Csermely Péternek köszönöm barátságát, az inspirációt, a gondolat szabadságának tiszteletét, nagylelkűségét, hogy segítette önállósodásomat.

Mandl József és Bánhegyi Gábor az Orvosi Vegytani Intézet Igazgatóiként a kutatói szabadságot és a magas szakmai színvonalat támogató közeget teremtettek, amelynek részesévé tettek és ahol bármilyen gondommal számíthattam segítségükre. Köszönöm mindkettejük, valamint az Intézet volt és jelen munkatársainak támogatását.

Szerencsés vagyok, hogy diákköri és doktori éveimet Schnaider Tamással baráti közösségben és szolidaritásban, egymástól tanulva tölthettem. Hálás vagyok Tóth Márton posztdoktor barátomnak az együtt gondolkodásért és a *C. elegans* laboratórium megteremtésében vállalt alapvető szerepéért. Gilányi Bea kollégám érdeme a labor rendezett, olajozott működése, köszönöm megbízható munkáját. Munkatársaim és tanítványaim életük egy részét a közös munkának szentelték, köszönöm, hogy tanulhattam tőlük és általuk (a teljesség igénye nélkül): Putics Ákos posztdoktornak; Alper Arslan, Papp Diána, Nguyen Minh Tu, Gyurkó Dávid és Somogyvári Milán volt és jelenlegi PhD hallgatóknak (közülük többen korábbi diákkörösök és szakdolgozók voltak); Spiró Zoltán és Dancsó Balázs szakdolgozóknak; Vermes Ákos, Rácz Attila, Kovács Levente, Végh Eszter Mária, Maria Chikina, Láng Júlia, Pathó Zoltán, Tihanyi Benedek és Taisz István diákkörös hallgatóknak.

Hálás vagyok sok hazai és külföldi kollégámnak az együttműködések, kihívások és közös felfedezések formáló erejéért. Köszönöm az ismeretlen bíráló kollégák idejét, érdeklődését és jobbító szándékát. Vellai Tibor tudása és folyamatos önzetlen segítése lehetővé tette a *C. elegans* műhely létrehozását és segíti magas színvonalú működését, melyet köszönök. Örömmel tölt el, hogy a *C. elegans* közösséghez tartozhatom, amelynek baráti és tudásközpontú légköre, valamint a nyílt tudás- és törzsbázis (Wormbase és *Caenorhabditis* Genetics Center) bármilyen merész elképzelés és együttműködés megvalósítását megkönnyíti.

dc_625_12

Munkám anyagi alapjait többek között a Semmelweis Egyetem jogviszonya, elismerései, a Magyar Tudományos Akadémia Bolyai Ösztöndíja két ízben, valamint számos tudományos pályázati forrás (OTKA, Norvég Finanszírozási Mechanizmus, az Európai Unió FP6 és FP7-es keretprogramja) biztosította, melyeket köszönök.

Hálás vagyok ismerősöknek, barátoknak, mestereknek. Külön köszönet Max Claytonnak. Nem tudom szóval megköszönni Szüleimnek, hogy vagyok, családomnak, gyermekeimnek, hogy vannak.

Budapest, 2013. március 8.

Sőti Csaba