

Válasz

a Prof. Dr. Derényi Imre

*az Eötvös Loránd Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Fizikai és Csillagászati Intézet,
Biológiai Fizika Tanszék egyetemi tanára, az MTA levelező tagja*

által készített opponensi véleményre

Tisztelt Professzor Úr!

Köszönöm, hogy elvállalta a doktori értekezésem bírálatát! Köszönöm az értekezésem gondos átnézésére szánt idejét, a véleményében megfogalmazott észrevételeket és konstruktív kritikát, ami lehetőséget adott arra, hogy új szempontokat is átgondoljak, és mélyebben foglalkozzam a dolgozatban tárgyalt kérdésekkel.

Az opponensi véleményben szereplő észrevételekre és kérdésekre az alábbiakban válaszolok.

Az egyszerűbb követhetőség érdekében válaszaimat közvetlenül az opponensi vélemény szövege (kék színnel kiemelve) után adtam meg.

Bízva a válaszaim pozitív elbírálásában, maradok tisztelettel:



Dr. Bugyi Beáta

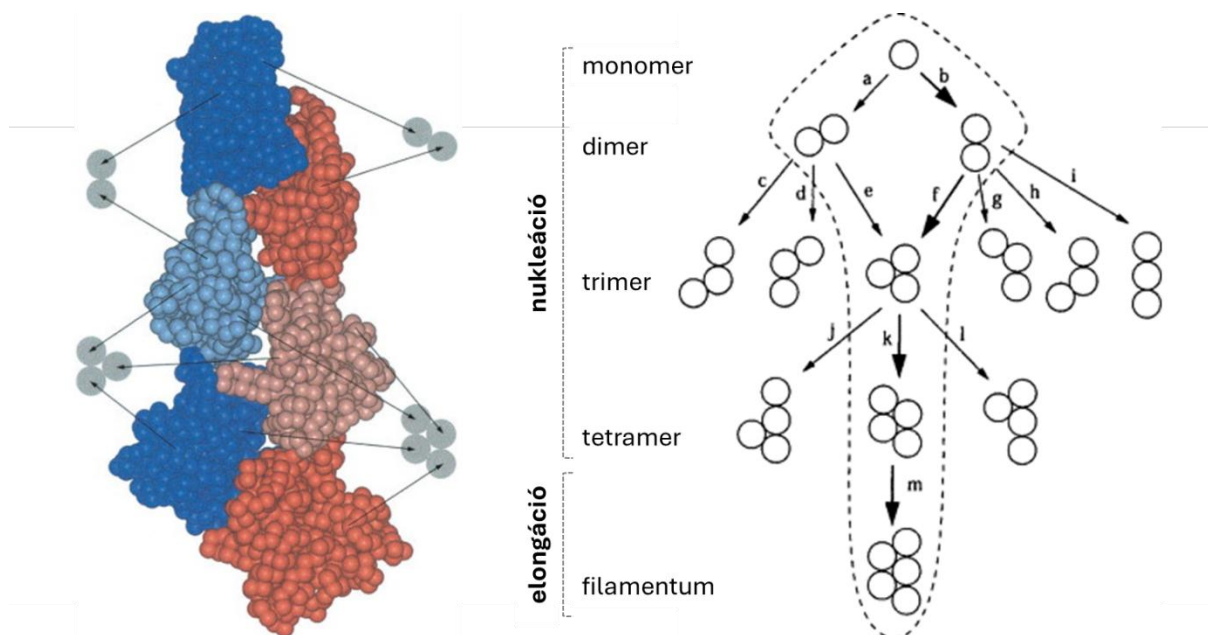
Pécs, 2025. 09. 22.

A 9. oldalon hogy kell értelmezni azt, hogy „a disszociáció valószínűsége nagy ($k_- \sim 10^{-10} \text{ s}^{-1}$)”? Valóban 9 nagyságrendet változik? Összhangban van ez a 3. táblázattal? És hogy kell itt a valószínűséget értelmezni?

A dolgozat „Az aktin önszerveződésének mechanizmusai”, „1. De novo nukleáció és szekvenciális alegység beépülés (elongáció) – polimerizáció” fejezetében (9. oldal) megadott kinetikai paraméterek az [58] számú irodalmi hivatkozásból származnak [1]. A munkában az aktin polimerizáció intermediereit (dimer, trimer, tetramer) jellemző termodinamikai és kinetikai paramétereket határozták meg különböző nukleációs útvonalak mentén (1. ábra, 1. táblázat). A számítások alapján azonosították a legvalószínűbb nukleációs útvonalat (1. ábra, b, f, k, m lépések, ami eredményeként a filamentumok 99.7%-a létrejön). Az egyes útvonalak közötti különbséget az adja, hogy a nukleációs intermedierekben az aktin monomerek orientációja többféle lehet: kétféle dimert (laterális és longitudinális), hatféle trimert és háromféle tetramert különböztethetünk meg (1. ábra). Ezek asszociációs és disszociációs sebességi állandói eltérnek egymástól (1. táblázat). A dolgozatban megadott „ $k_- \sim 10^{-10} \text{ s}^{-1}$ ” adat a különböző nukleációs intermedierek disszociációs sebességi állandóinak „-tól, -ig” tartományát jelzi. Nem volt céлом minden egyes komplexre vonatkozóan az értékek felsorolása, inkább a nukleáció kinetikailag kedvezőtlen mivoltát akartam érzékeltetni. A kilenc nagyságrendnyi eltérés tehát az eltérő orientációjú/szerkezetű intermedierek disszociációs sebességi állandói közötti különbségnek felel meg.

A dolgozat 3. táblázatában (9. oldal) megadott adatok az elongáció szakaszára vonatkoznak. Az adatsorok összhangban vannak egymással: az ATP-kötött aktin esetén a szöges vég dinamikáját jellemző asszociációs és disszociációs sebességi állandók ($k_+ = 11.6 \mu\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$, $k_- = 1.4 \text{ s}^{-1}$), valamint a kritikus koncentráció ($c_c = 0.12 \mu\text{M}$) vonatkozásában.

A „valószínűség” fogalma a disszociációs sebességi állandóval kapcsolatban jelenik meg a dolgozatban. A disszociációs sebességi állandó a komplex, jelen esetben a nukleációs intermedierek disszociációjának gyakoriságát fejezi ki [2, 3]. Nagyobb disszociációs sebességi állandó esetén nagyobb valószínűséggel találjuk az alkotókat disszociált állapotban, mint komplex formában. A sebességi állandó egzakt értelmezését és a vonatkozó matematikai összefüggéseket az ütközési elmélet és az átmenetiállapot elmélet alapján adhatjuk meg, ezek részletes ismertetésére az alábbi munkákat hivatkozom: [2-4].



1. ábra (bal oldali panel) Az F-aktin szerkezeti modellje (hexamer, Holmes modell). (jobb oldali panel) A Brown-dinamikai szimulációban figyelembe vett nukleációs útvonalak sematikus bemutatása. A vastag nyilak jelzik a legvalószínűbb nukleációs útvonalat (b, f, k, m lépések), ami eredményeként a filamentumok 99.7%-a létrejön. Az 1. ábra és az 1. táblázat jelölései összhangban vannak. Az ábra az [1] irodalmi hivatkozás Figure 1. és Figure 2. jelölésű ábrái alapján készült.

			ΔG_b (kcal/mol)	k_- (s ⁻¹)	k_+ ($\mu\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)	K_D
nukleáció	dimer	(a)	6.34	5.11×10^{10}	1.23	$4.2 \times 10^4 \text{ M}$
		(b)	0.91	1.63×10^8	35.7	4.6 M
	trimer	(c)	0.82	4.57×10^7	23.5	1.9 M
		(d)	1.10	7.31×10^7	18.5	4.0 M
		(e)	-9.84	0.80	11.8	0.068 μM
		(f)	-4.42	1.30×10^3	2.18	0.60 mM
		(g)	6.44	5.69×10^{11}	0.99	$5.7 \times 10^5 \text{ M}$
		(h)	6.48	6.09×10^{11}	0.77	$7.9 \times 10^5 \text{ M}$
		(i)	1.02	3.01×10^8	54.3	5.5 M
	tetramer	(j)	1.04	1.28×10^8	22.4	5.7 M
		(k)	-9.42	1.51	11.1	0.14 μM
		(l)	0.84	9.37×10^7	22.9	4.1 M
elongáció	filamentum	(m)	-9.49	1.41	11.6	0.12 μM

1. táblázat Az aktin polimerizáció különböző nukleációs útvonalait és intermediereit jellemző termodinamikai és kinetikai paraméterek. Az 1. ábra és az 1. táblázat jelölései összhangban vannak. A táblázatban bemutatott adatok forrása: [1].

2. Van-e valami szerepe annak, hogy az F-aktin helikális szerkezetű (míg pl. a mikrotubulus nem), vagy véletlenül alakulhatott így? Az evolúció során mikor, és milyen organizmusban jelent meg először az F-aktin?

Az aktin filamentum egyik jellegzetes tulajdonsága a helikális szerkezet, amiből számos alapvető sajáttság ered. Az eukarióta aktin filamentum egyrészt egy balmenetes, egyszálú, kis menetemelkedésű hélixként írható le, ugyanakkor a monomerekből felépülő láncok egy jobbmenetes, duplaszálú, nagy menetemelkedésű hélixet alkotnak (dolgozat, 2. ábra, 7. oldal). Az F-aktin helikális szerkezetének szerepéről a közelmúltban publikáltak volt kollégáim egy kiváló összefoglaló tanulmányt „The many implications of actin filament helicity” címmel [5]. A jelenlegi ismereteink alapján az F-aktin helikális szerkezete az alábbi szerepekkel bírhat.

(i) molekuláris lépték

A helikális szerkezet molekuláris léptékben meghatározó a filamentum biomechanikai és biokémiai tulajdonságainak kialakításában.

- Az F-aktin a helikális szerkezete miatt királis; a filamentum nem hozható fedésbe a tükörképével, eltérő a csavarodásuk iránya.
- A monomerek szabályos ismétlődése mellett a helikális szerkezet is periodicitást kölcsönöz a filamentumnak. Ez például geometriai korlátot szabhat a kötegelő fehérjék kötőhelyeinek térbeli ismétlődésére és ezáltal befolyásolhatja a filamentumkötegek szerveződését.
- A filamentum helikális szerkezete lehetővé teszi a különböző típusú mechanikai feszültségek közötti csatolást, például a csavarás és hajlítás, illetve a nyújtás és csavarás között.
- A helikális sajátosság befolyásolhatja az aktinkötő fehérjékkel kialakított kölcsönhatásokat és fordítva; az aktinkötő fehérjék (pl. ADF/cofilin) módosíthatják a filamentum helikális jellemzőit.

(ii) sejt és szöveti lépték

A molekuláris skálán túl a filamentumok helikális természetének aktinkötő fehérjék általi kihasználása meghatározó a sejt és szöveti léptékű kiralitás és aszimmetria kialakításában.

- Az F-aktin helikális szerkezete és a sejt és szöveti léptékű kiralitás közötti kapcsolat vonatkozásában példaként említhető a miozin fehérjecsalád [6]. A miozin-1d ektopikus expressziója sejtszintű polarizációt, a légcső kifejezett jobbra csavarodását és az egész lárvatest jobbra csavarodását idézi elő *Drosophila*-ban (dextrális csavarodás). A miozin-1c ellentétes hatást fejt ki (szinisztrális csavarodás). Figyelemre méltó, hogy a két motorfehérje közötti különbség molekuláris szinten a motor doménhez köthető és az egyedi aktin filamentumok szintjén is megjelenik; a miozin-1d az óramutató járásával ellentétesen hajtja a filamentumokat, míg a miozin-1c nem mutat irányultsági preferenciát az *in vitro* motilitás esszéiben.

Az aktin polimer formájának és szerkezeti sajátosságainak evolúciós aspektusát kiváló összefoglaló tanulmányok mutatják be [7-9].

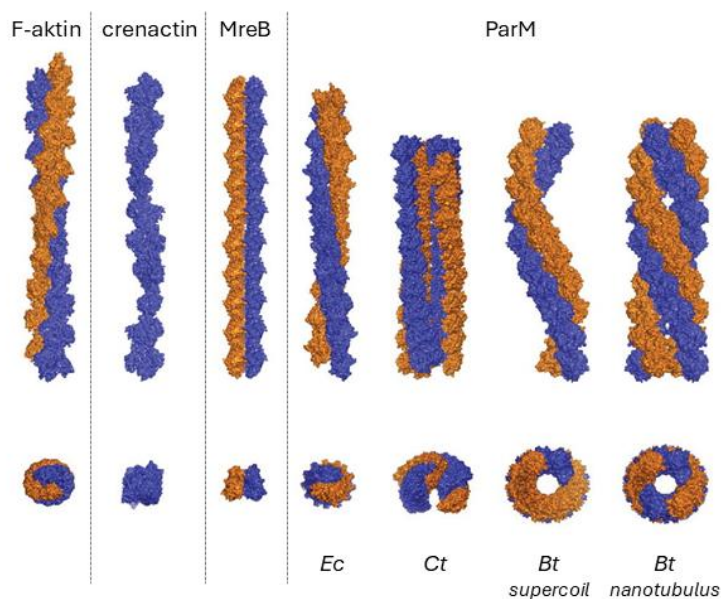
(i) az eukarióta „egy aktin minden funkcióra” elv

Az F-aktin elnevezés az eukarióta fehérje filamentális formájára utal. Az eukarióta élővilág sokféleségében az aktin az egyik legkonzerváltabb fehérje: az élesztőtől az emberig terjedő, mintegy 1.3 milliárd éves evolúciós távolság ellenére az aminosav-szekvenciája több mint 90%-os azonosságot mutat (dolgozat, F1. ábra, 102. oldal). Ez a rendkívüli szerkezeti konzerváltság valószínűleg annak köszönhető, hogy az aktin funkcionálisan egy sokirányú kapcsolódási pontként (*hub*) működik. A citoplazmában jelen lévő univerzális aktin készletet az aktinkötő fehérjék különféle biológiai folyamatokban hasznosítják, akár szerkezeti vázként, akár erő kifejtő gépezet alapjaként. Az eukarióta F-aktin több, egymástól független biológiai folyamatba való integrálódása negatív szelekciós nyomást jelentett és korlátot szabott a szekvencia és a szerkezet evolúciós változásának. Az eukariótákban egy konzervált, központi aktin fehérjét találunk, amihez az aktinkötő fehérjék széles tárháza társul, így az „egy aktin minden funkcióra” elv érvényesül.

(ii) a prokarióta „minden funkcióra egy aktin” elv

Az eukariótákkal szemben a prokariótákra az aktinszerű fehérjék változatossága jellemző. Bár ezek a fehérjék mind az aktin szerkezeti családba tartoznak (aktin *fold*), szekvenciaazonosságuk alacsony (~20%) [7] és eltérő filamentum morfológiával jellemezhetők (2. ábra, 2. táblázat). A prokarióták a különböző sejtfunciókat számos, egymástól eltérő aktinszerű fehérjével látják el, a „minden funkcióra egy aktin” elvét követve. A bakteriális genom aktinszerű fehérjéi (pl. MreB, FtsA, ParM) filogenetikailag ugyan különböznek az eukarióta aktintól [10], de képesek filamentumokba szerveződni. Az archeák doménjén belül, az Asgard csoportban, szintén jelen vannak archea-specifikus aktinszerű fehérjék, mint például a crenactin. A crenactin a környezeti körülményektől függően egyszálú [11, 12] vagy *bona fide* duplaszálú helikális filamentumot alakít ki [13]. Az Asgard archeák genomjában olyan gének is megtalálhatók, amelyek eukarióta típusú aktin-asszociált fehérjéket kódolnak (pl. profilin, gelsolin, kofilin). Az olyan törzsek, mint a *Lokiarchaeota*, *Thorarchaeota*, *Odinarchaeota* és *Heimdallarchaeota* aktin-asszociált fehérjeinek *in vitro* vizsgálatai azt mutatják, hogy ezek a fehérjék az eukarióta megfelelőik kanonikus tulajdonságait hordozzák [14-16]. Mindez arra utal, hogy ezekben az archeákban jelen lehetnek filamentális struktúrák és dinamikus filamentumhálózatok, azaz egy aktin sejtvázszerű rendszer.

Az aktin és aktinszerű fehérjékből felépülő filamentumok szerkezete és funkciója jelentős eltéréseket mutat az élővilágban, ugyanakkor feltételezhető, hogy valamennyi ilyen fehérje egy közös, ősi filamentumképző aktinszerű fehérje leszármazottja [9]. Az aktin és aktinszerű fehérjék jelenléte mindhárom doménben – az eukariótákban, archeákban és baktériumokban – arra utal, hogy az aktin már az utolsó univerzális közös ősből (*last universal common ancestor*, LUCA) is jelen lehetett [17].



2. ábra Az aktin és aktinszerű fehérjékből felépülő filamentumok. Az ábra a [7] irodalmi hivatkozás Figure 1. jelölésű ábrája alapján készült.

fehérje	eredet	szerkezeti sajátosság			
		helikális	csavarodás iránya	egyszálú duplaszálú	orientáció
F-aktin	eukarióta	helikális	jobbmenetes	duplaszálú	parallel
crenactin	<i>Pyrobaculum calidifontis</i> (Pc)	helikális	jobbmenetes	duplaszálú	parallel
		-	-	egyszálú	-
MreB	<i>Caulobacter crescentus</i> (Cc)	nem helikális	-	duplaszálú	antiparallel
ParM	<i>Escherichia coli</i> (Ec) R1 plazmid	helikális	balmenetes	duplaszálú	parallel
	<i>Clostridium tetani</i> (Ct) pE88 plazmid	nyitott nanotubulus 4-szálú (2 duplaszálú antiparallel protofilamentum)			
	<i>Bacillus thuringiensis</i> (Bt) pBMB67 plazmid	duplaszálú, antiparallel, <i>supercoil</i> ↓ ParR DNS-kötő adapter fehérje jelenlétében zárt nanotubulus 2 egymásba szőtt duplaszálú, antiparallel, <i>supercoil</i>			

2. táblázat Az aktin és aktinszerű fehérjékből felépülő filamentumok szerkezeti jellemzői [7, 9].

3. A 41. oldalon azt olvashatjuk, hogy „A forminok sajátága, hogy processzív összeszerelő faktorként működnek: a polimerizáció során a filamentumok szöges végéhez kötődnek és ezzel egyidőben lehetővé teszik az alegységek asszociációját és disszociációját több cikluson keresztül.” Ha jól értem, akkor ez a forminok nélkül is megtörténne, ráadásul a 9. táblázat szerint egy nagyságrenddel gyorsabban. Mi szükség van akkor az összeszerelésben a forminokra?

Az Opponens kérdése egy fontos és érdekes problémakört érint, ami a forminok *in vitro* kölcsönhatásainak és aktivitásainak biológiai relevanciájához irányítja a figyelmünket. A dolgozat „1. Bevezetés”, „Az aktin önszerveződésének mechanizmusai” fejezete (9-10. oldal) tárgyalja, hogy az aktin megfelelő biokémiai környezetben – például megfelelő ionerősség és aktinkoncentráció mellett – spontán módon, aktinkötő fehérjék hiányában is képes filamentumokba és filamentumkötegekbe szerveződni. Ez azonban kontroll nélküli, ami az aktin sejtvázs szerveződése és a sejt működése szempontjából nem célravezető. Az intracelluláris környezetben a filamentumok összeszerelődésének térbeli és időbeli szabályozása és funkcionálisan eltérő aktin hálózatok specializációja kell megvalósuljon. A forminok ezekhez a mechanizmusokhoz járulnak hozzá a filamentumok összeszerelődésének (i) kinetikai, valamint (ii) geometriai és mechanikai kontrollján keresztül. Szerepük nem csupán a különböző biológiai folyamatokban, hanem betegségekhez való kapcsolódásukban is megnyilvánul (dolgozat, 8. táblázat, 36. oldal; [18]).

(i) kinetikai kontroll

A forminokra a filamentumok képződésének térbeli és időbeli szabályozásához van szükség; bár jelenlétükben a polimerizáció sebessége lassabb lehet, mint a spontán folyamat sebessége, mégis kontrollált filamentumképződést tesznek lehetővé (hol és mikor képződjenek a filamentumok, illetve mennyi ideig növekedjenek).

Az intracelluláris aktin dinamika szabályozásának egyik alapvető módja a filamentumok képződésének (nukleáció) és növekedésének (elongáció) kontrollján keresztül valósul meg. A formin fehérjék közös tulajdonsága, hogy az FH1-FH2 modul a nukleációt katalizálja, az elongációt processzív módon támogatja a sapkafehérjével (*capping protein*) antagonisztikus módon együttműködve. Az egyes formin altípusok hatása kvalitatív módon nem, csak kvantitatív jellemzőiben tér el [17, 19]. A kinetikai jellemzők alapján a formin családban két szélsőséget képvisel például a DAAM és az mDia1. A DAAM profilin hiányában sapkafehérje-szerű módon, szinte teljesen gátolja a filamentumok elongációját, míg profilin jelenlétében a DAAM közvetített elongáció sebessége eléri a szöges vég spontán növekedési sebességét [20]. Ezzel szemben az mDia1 profilin hiányában csak mérsékelten gátolja az elongációt, profilin jelenlétében pedig az mDia1 közvetített elongáció sebessége akár az ötszöröse is lehet a szöges vég spontán növekedési sebességének [19].

Megjegyzendő, hogy *in vivo* az FH1-FH2 nukleációt elősegítő hatása korlátozott lehet, mivel a forminok kevésbé hatékonyan képesek nukleálni a profilin:aktin komplexet, mint a szabad aktin monomereket. Feltételezhető, hogy az FH1-FH2 domének *in vivo* domináns funkciója nem a nukleáció során, hanem a profilinnal együttműködésben a processzív elongációban és a sapkafehérjével szembeni antagonisztikus hatásban nyilvánul meg. A forminok és a sapkafehérje közötti együttműködés az aktin filamentumok növekedésének egyfajta finomhangolójaként működhet az elongáció/termináció közötti egyensúly szabályozásán keresztül. A processzív sajátosság és sapkafehérjével szembeni antagonisztikus hatás miatt a forminhoz kapcsolódó aktin

filamentumok gyorsan és tartósan tudnak növekedni a sejtben; az mDia1 fibroblasztokban másodpercenként 700 „monomernyi” filamentumot képes növesztetni [21].

(ii) geometriai és mechanikai kontroll

A forminokra a filamentumok geometriai és mechanikai tulajdonságainak szabályozásához is szükség van.

A forminok működésének ezt az aspektusát a dolgozat „Az intracelluláris aktin hálózatok funkcionális polimorfizmusa” fejezete (10-12. oldal) mutatja be az alábbiak szerint.

A PhD munkám egyik meghatározó eredményeként leírtuk, hogy a forminok (pl. mDia1) komplex módon befolyásolják a filamentumok mechanikai tulajdonságait [22, 23]. Az ennek nyomán felállított hipotézisünk szerint az összeszerelő faktorok meghatározó szerepet játszanak az aktinkötő fehérjék szegregációjában és ezáltal az aktin hálózatok funkcionális specializációjában [24]. Az összeszerelő faktorok által vezérelt *sorting* mechanizmus azon alapul, hogy ezek a faktorok aktivitásuk természetéből adódóan elsőként lépnek kölcsönhatásba a képződő filamentumokkal. A filamentumok geometriai (pl. elágazó vagy egyenes) és mechanikai jellemzőin keresztül befolyásolhatják a további fehérje-fehérje kapcsolódásokat, így irányítva az aktinkötő fehérjék aktin hálózatokhoz való hozzárendelését és hozzájárulva azok funkcionális diverzitásának kialakításához. Ezt a *sorting* mechanizmust hasadó élesztőben, valamint tisztított fehérjerendszerekben végzett, egyedi filamentumok vizualizációján alapuló kísérletek is alátámasztották [25].

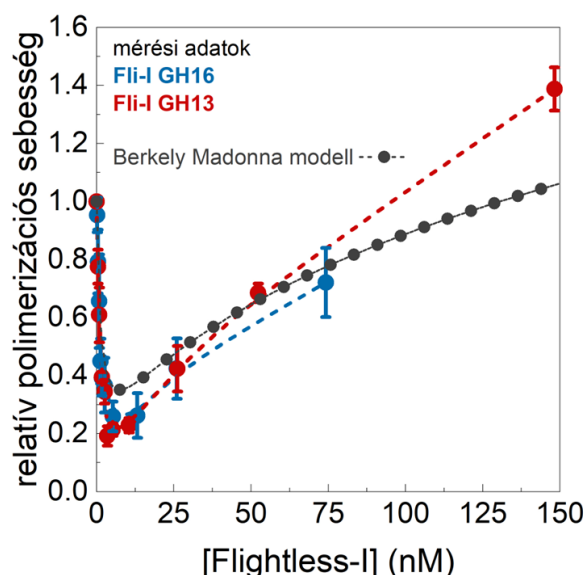
4. A 68-70. oldalon magyarázatot találunk a Fli-I kétfázisú hatására. Felállítottak-e egy olyan kinetikai modellt, ami kvantitatív módon képes reprodukálni a kétfázisú viselkedést, és illeszteni a 42. ábra görbéit (különösen a jobb szélsőt)?

Munkánk során a Flightless-I kétfázisú hatásának hátterében álló mechanizmusokat kísérletes módszerekkel vizsgáltuk és egyedi aktin filamentumok megjelenítésén alapuló TIRFM kísérletek segítségével azonosítottuk. A mechanisztikus következtetéseket ezeknek az eredményeinknek az alapján vontunk le, nem dolgoztunk ki olyan kinetikai modellt, ami a fehérje viselkedését leírja.

A kinetikai szimulációk és modellek komplementerei lehetnek a kísérletekből származó adatoknak [26, 27]. Az ilyen típusú modellezéshez több szoftveres eszköz is rendelkezésre áll (pl. [Berkeley Madonna](#), [MATLAB](#), [Tenua](#), [Virtual Cell](#)). Az aktin polimerizáció és az aktinkötő fehérjék hatásainak modellezésére több tanulmányban alkalmazták a Berkeley Madonna szoftvert [28-33].

A kinetikai modellekben és a kapcsolódó szoftverek használatában a kutatócsoportom nem rendelkezik jártassággal. Az Opponens kérdése nyomán a Berkeley Madonna-t alkalmazva modelleztem a Flightless-I aktin polimerizációban tetten érhető viselkedését. A Berkeley Madonna teljes funkcionalitása előfizetéshez kötött, ehhez a változathoz nincs hozzáférésem. Az ingyenesen elérhető verzióban ugyanakkor jelentős korlátozás, hogy a modelleket nem lehet elmenteni.

A modell alapjául szolgáló megfontolásokat és paramétereket az alábbi táblázatban foglaltam össze (3. táblázat). A relatív polimerizációs sebesség([Flightless-I]) függvényt a kísérleti úton meghatározott adataink (dolgozat, 42. ábra, 68. oldal) és a kinetikai modell alapján származtatott értékeknek megfelelően ábrázoltam (3. ábra). A szöges vég sapkázást és a nukleációs aktivitást feltételező modell reprodukálja a Flightless-I kísérleteinkben megfigyelt kétfázisú viselkedését.



3. ábra A relatív polimerizációs sebesség([Flightless-I]) függvény a kísérleteinkből származó adatoknak (dolgozat, 42. ábra, 68. oldal) és a kinetikai modellnek (Berkeley Madonna, 3. táblázat) megfelelően.

	reakció	Kf ($\mu\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)	Kr (s^{-1})
1.	spontán nukleáció $A + A \rightarrow F$	5×10^{-9}	0
	nukleáció: az egyszerűség kedvéért egyetlen lassú, irreverzibilis reakcióként feltételezve		
2.	spontán elongáció $F + A \leftrightarrow F$	11.6	1.4
	elongáció: ATP-kötött aktint és a szöges vég dinamikáját feltételezve		
3.	a Flightless-I szöges vég kötése és sapkázás $F + X \leftrightarrow XF$	7	0.0015
	sapkázás: a szöges végen sem monomer asszociáció, sem disszociáció nem történik a kísérleteink alapján a Flightless-I:F-aktin szöges vég kötés disszociációs egyensúlyi állandójának nagyságrendje: $K_d \sim 0.1\text{-}1 \text{ nM} = K_{3r}/K_{3f}$		
4.	a Flightless-I monomer kötése $A + X \leftrightarrow AX$	1	1
	a kísérleteink alapján a Flightless-I:G-aktin kötés disszociációs egyensúlyi állandójának nagyságrendje: $K_d \sim 1000 \text{ nM} = K_{4r}/K_{4f}$		
5.	a Flightless-I nukleációt elősegítő hatása $AX + AX \leftrightarrow XF$	8×10^{-4}	1×10^{-5}
	a nukleációt követően a Flightless-I a szöges végen marad és a filamentumot sapkázza		

3. táblázat A kinetikai modell reakciósémái és paraméterei.

A: aktin monomer

F: aktin filamentum

X: Flightless-I

A Berkeley Madonna jelölései szerint Kf az asszociációs (f: *forward*) és Kr a disszociációs (r: *reverse*) sebességi állandó. Példaként a K1f és a K1r az 1. reakció sebességi állandói.

A kiindulási aktin monomer koncentrációt INIT A = 2.5 μM -ra állítottam a kísérleteinkben alkalmazott körülményeknek megfelelően.

5. Visszaulva a 4. tézispontra, mennyire innovatívak a módszertani fejlesztések (különös tekintettel a szedimentációs protokollra)?

A 4. tézispontot azonban nem tudom tudományos eredményként értelmezni. Az, hogy kiépítettek egy mikroszkópai rendszert és módszertani fejlesztést végeztek fontos része ugyan a kutatómunkának, de önmagában nem tudományos eredmény. Kivéve talán, ha a jelölt meggyőzően be tudja mutatni, hogy a fejlesztés olyan új eljáráshoz vezetett, amit mások is átvettek, és jelentősen bővítette az alkalmazható kísérleti módszerek körét. Ez persze semmit nem von el az előző pontokban felsorolt eredmények értékéből.

A módszertani fejlesztéseink jelentőségét, valamint a hazai és nemzetközi tudományos közösség általi elismerésüket az alábbiakban mutatom be, a dolgozatban megadott felsorolás (90–91. oldal) szerinti sorrendben.

„A lamellipodium és a lamella szegregációját, valamint a filopodiumszerű aktin hálózatot rekonstruáló biomimetikus rendszer kidolgozása.”

A biomimetikus módszertan vonatkozásában több összefoglaló tanulmány írására kaptunk felkérést. Ezek közül két publikációt első szerzőként jegyzek [34–36].

A formin alapú filopodiumszerű aktin hálózatot rekonstruáló biomimetikus rendszert sikeresen alkalmaztam a WH2 domén Spire fehérje működésének vizsgálatában. Az eredményeket a *Molecular Cell* folyóiratban közzétük, a publikációt társszerzőként jegyzem [37].

A tropomiozin alapú biomimetikus rendszert Dyché Mullins kutatócsoportja (*UCSF, Department of Cellular and Molecular Pharmacology, USA*) is alkalmazta [38].

„Az aktinkötő fehérjék aktin monomerekkel kialakított kölcsönhatásának vizsgálatára alkalmas fluoreszcencia spektroszkópai módszer és fluoreszcens jelzőmolekulák alkalmazhatóságának validálása.”

Az aktin sejtmentes, *in vitro* rendszerekben történő vizsgálatának elterjedt módszerei közé tartoznak a fluoreszcencián alapuló spektroszkópai és mikroszkópai (meghatározó jelentőséggel a TIRFM) technikák. Az aktin fluoreszcens jelölésére kezdetben tiol-reaktív festékeket (pl. jódacetamid, IAEDANS, pirén) alkalmaztak, később pedig az amin-reaktív jelzőmolekulák (pl. Alexa Fluor™ NHS) terjedtek el; a TIRFM térhódításával a műszeres infrastruktúra elvárásai és a jelzőmolekulák kedvező fotofizikai tulajdonságai miatt. A szakterület egyik hiányossága maradt a jelölők alkalmazhatóságának validálása az aktin és aktinkötő fehérjék kölcsönhatásainak vizsgálatában. Az *in vitro* fehérjerendszerekkel szemben támasztott minőségi elvárásokra és kontrollokra több publikáció is felhívja a figyelmet [39, 40], az ellentmondásos irodalmi eredmények hátterében is a megfelelő kontrollok hiánya állhat (pl. aktin:WH2 domén komplexek sztöchiometriai viszonyai [41]).

Hiánypótló munkaként a fluoreszcencia vizsgálatokban alkalmazott jelölők validálását végeztük el, alapvető ismereteket szolgáltatva a jelzőmolekulák alkalmazhatóságáról. Vizsgálatainkat a dolgozat „4. Módszerek”, „Fluoreszcencia spektroszkópai módszer validálása a G-aktin kölcsönhatás vizsgálatára” fejezete (79–84. oldal) mutatja be. Az eredmények egy részét már publikáltuk, a közleményt utolsó/levelező szerzőként jegyzem [42], míg az analízissel kapcsolatos eredményeket bemutató közlemény előkészítés alatt áll. Munkánk hiánypótló jellegét nemzetközi

visszajelzések is alátámasztják; módszertani aspektusait több publikáció is hivatkozza: [39, 43-46]. A tématerület kutatóival folytatott diszkusszió nyomán köszönetnyilvánításban is részesültem; lásd *Acknowledgments* rész [39].

„Kétcsatornás TIRF mikroszkópiai rendszer kiépítése, amely lehetővé teszi az aktin filamentumok szerveződési folyamatainak (de novo nukleáció és szekvenciális alegység beépülés (elongáció), szétszerelődés, vég-vég kapcsolódás (annealing)) valós időben történő vizsgálatát az egyedi aktin polimerek megjelenítése révén.”

A TIRFM-alapú vizsgálati módszereket kutatócsoportomban más csoportoktól függetlenül dolgoztuk ki. A módszerek és a kísérleti körülmények optimalizálását és beállítását magam végeztem. Kiemelendőnek tartom a két eltérő spektrális tulajdonságú fluorofórral jelölt aktin alkalmazásán alapuló *dual-color* kísérleti összeállítást. Ez lehetővé teszi az aktin filamentumok szögös vég növekedésének szelektív vizsgálatát [20, 47], azok vég-vég kapcsolódásának (*annealing*) megfigyelését [47, 48], valamint az F-aktin és a mikrotubulusok együttes vizsgálatát [49]. Ez utóbbi, tisztított fehérjéken alapuló rendszer világszinten is csak néhány laboratóriumban érhető el [50-52]. Fontos fejlesztésünk volt továbbá a filamentumok szétszerelődésének vizsgálatára alkalmas TIRFM módszer [47]. Ez nemzetközi viszonylatban is újdonságnak számított és érdeklődésre tartott számot. Ezt alátámasztandó *Bruce Goode* kutatócsoportja (*Brandeis University, Department of Biology, USA*) is alkalmazta módszert, ugyan ők tőlünk függetlenül dolgozták ki [53].

„A forminok citolinker aktivitásának, az egyidejű F-aktin és mikrotubulus kölcsönhatásának (kereszt kötő/citolinker aktivitás) vizsgálata szedimentációs módszer alkalmazásával.”

A dolgozatban bemutatott szedimentációs protokoll egyedülálló módszertant kínál; lehetővé teszi az F-aktin:mikrotubulus kopolimer kötegek elválasztását az egyedi polimerektől vagy homogén polimer kötegektől. A módszert és a kísérleti körülményeket egy korábbi publikáció [52] alapján magam optimalizáltam és állítottam be. Ehhez szükség volt a mikrotubulusok előállítására, valamint a szedimentáció során használt 30%-os szacharóz gradiens alkalmazásának kidolgozására. A publikációban elérhető szűkszavú, mindösszesen két mondatnyi leírásból indulva a módszert gyakorlatilag az alapoktól kellett felépíteni, minden kontrollal és trükkös technikai megoldásával együtt, adaptálva a saját fehérjerendszerünkre [49].

A fentiek mellett a módszertani fejlesztéseink és tapasztalataink jelentőségét, a hazai és nemzetközi tudományos közösség általi elismerésüket az alábbi visszajelzések is alátámasztják.

Két alkalommal meghívott kutatóként vettem részt a nagy presztízsű EMBO által szervezett gyakorlati képzésen, ahol TIRF mikroszkópián és fluoreszcencia spektroszkópián alapuló kísérleti kurzusokat tartottam.

- 2017. EMBO practical course: Mechanisms of actin-dependent force generation, Heidelberg, Németország

Előadás: Activities of actin-binding proteins: TIRFM and spectroscopic approaches

Gyakorlati kurzus: Single filament imaging in in vitro reconstituted systems (TIRF)

- 2007. EMBO-FEBS Course: Studying cytoskeletal dynamics: from biology to physics, CNRS, LEBS Gif-sur-Yvette, Franciaország
Gyakorlati kurzus: The interaction of regulatory proteins with actin as revealed by fluorescence spectroscopic measurements

Kifejezetten a módszertanaink (TIRFM, rekombináns fehérje előállítás) alapján alvállalkozóként részt vettünk egy Horizon2020 és két kisebb nemzetközi pályázatban.

- 2017-2022. Horizon2020, Bio4Comp Grant agreement, Parallel network-based biocomputation: technological baseline, scale-up and innovation ecosystem. Együttműködés Alf Mansson kutatócsoportjával (Linnaeus University, Kalmar, Svédország)
- 2025. Stanley Makumire, Academy Research Fellowship, The Research Council of Finland, Scientific Council for Biosciences, Health, and the Environment. Együttműködés Inari Kursula kutatócsoportjával (University of Oulu, Finnország)
- 2024. Ezeogo Obaji, Academy Research Fellowship, The Research Council of Finland, Scientific Council for Biosciences, Health, and the Environment. Együttműködés Inari Kursula kutatócsoportjával (University of Oulu, Finnország)

Több rangos nemzetközi nyári és téli iskolán meghívott kutatóként mutattam be módszertanaink gyakorlati aspektusát (TIRFM, fluoreszcencia spektroszkópia, biomimetikus módszertan).

- 2019. Lasers in Medical and Life Sciences nyári iskola, Szeged
Előadás: Total internal reflection fluorescence microscopy in life sciences
- 2018. Lasers in Medical and Life Sciences nyári iskola, Szeged
Előadás: Total internal reflection fluorescence microscopy in life sciences
- 2017. Lasers in Medical and Life Sciences nyári iskola, Szeged
Előadás: Total internal reflection fluorescence microscopy in life sciences
- 2016. Lasers in Medical and Life Sciences nyári iskola, Szeged
Előadás: Total internal reflection fluorescence microscopy in life sciences
- 2012. DFG Priority Programme SPP 1464: Summer school on actin dynamics, Institute of Functional Genomics University of Regensburg, Regensburg, Németország
Előadás: Basic assays to study actin
Gyakorlati kurzus: In vitro assays to investigate the binding of proteins to actin filaments and monomers
- 2011. DFG Priority Programme SPP 1464: Summer school on actin dynamics, Institute of Functional Genomics University of Regensburg, Regensburg, Németország
Előadás: In vitro actin polymerization assays
Gyakorlati kurzus: Biomimetic model systems of actin-based motility
- 2010. DFG Priority Programme SPP 1464: Summer school on actin dynamics, Institute of Functional Genomics University of Regensburg, Regensburg, Németország
Előadás: How do in vitro reconstituted actin-based motility assays provide insight into in vivo behavior
- 2018. Muscle biophysics summer school, Budapest
Előadás: Actin binding proteins: pathways to sculpt functionally polymorph actin structures
- 2014. Present and future of fluorescence microscopy and spectroscopy winter school, Palladin Institute of Biochemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev, Ukrajna
Előadás: Biomimetic models to study actin-binding proteins

Az *Ezerarcú fehérjék* (Simmelweis Kiadó, 2018 szerk. Buday László, Nyitray László, Perczel András) című szakkönyvben a TIRFM technika módszertanát összefoglaló fejezetet jegyzek szerzőként.

- **Bugyi Beáta**, Matkó János, Nagy Péter, Szöllősi János, Vámosi György, Vereb György
Fénymikroszkópiák a sejt szintű fehérjekutatásban.

In: Buday, L., Nyitrai, László, Perczel, A (szerk.) Ezerarcú fehérjék
Budapest, Magyarország : Semmelweis Kiadó és Multimédia Stúdió (2018) 960 p. pp. 437-483. , 47 p.
ISBN: 9789633314586
Könyvrészlet (Könyvfejezet) Tudományos

A fentiek alapján úgy gondolom, hogy az a módszertani repertoár, amit a kutatócsoportommal másfél évtizedes munkával alakítottunk ki, mind infrastruktúra, mind szaktudás tekintetében tudományos értéket és eredményt képvisel. Az aktin vizsgálati módszereinek tudásbázisa hazai viszonylatban egyedülálló és nemzetközi szinten is csak kevés laboratóriumban érhető el. Ez hozzájárul ahhoz, hogy az aktinkutatás hazai hagyományait korszerű módszertani eszköztárral képviselhessük idehaza és külföldön egyaránt. Pályafutásom során három alkalommal váltottam kutatóhelyet, ami minden esetben kihívást jelentett a kutatási folyamatok folytonossága szempontjából. Ezek a tapasztalatok különösen értékké tették számomra a jól felszerelt és gondozott laboratóriumi környezetet, a megbízható protokollokat, és legfőképpen azokat a kollégákat, akik elhivatottságukkal, szaktudásukkal és kreativitásukkal képesek új módszerek kidolgozására vagy éppen „csak” meglévők adaptálására.

Tisztelettel kérem az Opponentst a fenti kiegészítés figyelembevételére a 4. tézispont, valamint a kapcsolódó módszertani eredmények tudományos értékének megítélésékor.

Az Opponens által megfogalmazott kérdések mellett az alábbi észrevételekre szeretnék kitérni és reagálni.

Nagyon hasznos lett volna a 14 saját publikáció elkülönült beszámozása, és ezek megfelelő hivatkozása. Az ábrákkal kapcsolatban is hasonló a helyzet. Az 58 bemutatott ábra közül mindössze 12-nek került megjelölésre a forrása.

Az Opponens észrevétele jogos, azt elfogadom. A 14 saját publikáció elkülönített számozása, valamint ezek és az ábrák megfelelő hivatkozása növelte volna a dolgozat áttekinthetőségét. Az ábrák estén forrásmegjelölés azoknál található, amik nem saját készítésű vagy nem saját eredményeken alapuló ábrák. A saját eredményeken alapuló ábrák esetén sajnos több esetben nem került feltüntetésre a forrás, több ábrát pedig kifejezetten a dolgozat számára készítettem, korábban nem kerültek publikálásra.

Az ábrákra vonatkozó forrásmegjelölések kapcsán az alábbi kiegészítést teszem.

publikáció	a dolgozatban bemutatott ábra sorszáma
[54]	2, 3
[35]	7, 8, 11, 12, 13, 14, 15, 17 (részben)
[34]	17 (részben)
[55]	16
[20]	20, 21, 22
[56]	9 (részben)
[57]	5 (részben), 24, 26, 27, 28, 29, 30 (részben), 31 (részben), 32, 33
[49]	34, 35, 36, 38
[47]	40, 41, 42, 43, 44, 45, 46 (részben), 47, 49 (részben)
[42]	51, 52, 53
[58]	23 (részben), 30 (részben), 50 (részben)
[59, 60]	54
a dolgozat számára készült korábban nem publikált saját készítésű ábra	6, 9 (részben), 18, 19, 23 (részben), 25, 30 (részben), 31 (részben), 37, 39 (részben), 46 (részben), 48, 49 (részben), 55, 56, 57, 58
nem saját publikációból származó ábra	1, 4, 5 (részben), 10 (publikáció alapján saját készítésű), 39 (részben)

...nehezen ítéltető meg a jelölt saját hozzájárulása az eredményekhez. Alig találni egyes szám első személyben tett állításokat (kb. 3 oldalra jut egy). Jóval gyakoribbak a többes szám első személyű kijelentések vagy a személytelen megfogalmazások (ahogy ez a fenti példákban is látszott), amik nem teszik egyértelművé a jelölt szerepét.

... el tudom fogadni az első 3 tézispontot, mint a jelölt új tudományos eredményeit, de kérem, hogy a védésen egyértelműen mutassa be, hogy mi volt ezekben a pontos szerepe, és hol kerültek publikálásra.

A dolgozatban jellemzően többes szám első személyű megfogalmazást használtam, célom ezzel a kutatómunka kollektív jellegének tükrözése és a közös tudományos munka iránti tisztelet kifejezése volt. A kutatásaink kísérletes jellegéből adódóan eredményeink jellemzően több kolléga, csapattag közös munkájának és erőfeszítéseinek köszönhetően születtek meg; az

ötleteléstől és pályázatírástól kezdve, a laboratóriumi környezet gondozásán, az eszközök és oldatok előkészítésén át, a kísérletek kivitelezéséig, az ismételések elvégzéséig, illetve az adatok feldolgozásáig.

A dolgozatban bemutatott munkában meghatározó a szerepem és a hozzájárulásom.

A tudományos eredmények részben a posztdoktori időszakom alatt (2006-2010) végzett munkámból származnak. Ennek során önállóan dolgoztam, a kísérletes munka szinte minden részét magam végeztem; a fehérjék előállításától a kísérletek elvégzésén keresztül az adatok feldolgozásáig.

A dolgozat meghatározó részét képezi a témavezetésemmel irányított kutatócsoport keretében végzett munka bemutatása (2010-jelenleg is). Ennek során a laboratóriumi munkában, a módszerek kidolgozásában és beállításában, a fehérjék előállításában, a kísérletek kivitelezése és értékelése terén is meghatározó részt vállaltam.

A szerepemet és a hozzájárulásomat megfelelően tükrözik a publikációk szerzői sorrendje és hierarchiája. „Az értekezés alapjául szolgáló tudományos közlemények” (93-95. oldal) listában felsorolt publikációk jellemzően első vagy utolsó/levelező szerzőként jegyzett publikációim, a megosztott szerzőség pedig a munkamegosztás valós arányát tükrözi.

Az dolgozat „3. Eredmények és megbeszélésük” fejezetében három esetben kerültek olyan eredmények bemutatásra, amik nem általam, vagy a kutatócsoportom által végzett kísérletből származnak, hanem együttműködő partnerünk, Mihály József (Szegedi Biológiai Kutatóközpont) kutatócsoportjának az eredményei. Ezeket minden esetben egyértelműen jelöltem (lásd 39. oldal, 20. ábra és lábjegyzet; 56. oldal, 34. ábra és lábjegyzet; 75. oldal, 49. ábra és lábjegyzet). Azért döntöttem ezek bemutatása mellett, mert úgy ítéltam meg, hogy hozzájárulnak és segítik a dolgozatban bemutatni kívánt vizsgálati stratégia és eredmények megértését.

A tézispontokban összegzett tudományos eredmények a dolgozat „6. Közlemények listája”, „Az értekezés alapjául szolgáló tudományos közlemények” pontban (93-95. oldal) megadott publikációkhoz az alábbiak szerint kapcsolódnak.

1. tézispont

„Azonosításra kerültek a protrúziós aktin hálózatok létrehozásában alapvető fehérje-fehérje kölcsönhatások és rekonstruáltuk a vonatkozó fehérjerendszereket.

- *Az eltérő szerkezeti és dinamikai sajátosságokkal rendelkező kompartmentek, a lamellipodium és lamella egy aktin hálózatból, a rendszer önszerveződése révén alakulhat ki. Ebben meghatározóak a tropomiozin fehérjecsalád izoforma specifikus kölcsönhatásai.*
- *A DAAM formin homológia domének, az aktin és a profilin tripartit kölcsönhatása meghatározó a filopodiumszerű aktin hálózat létrehozásában.”*

Kis-Bicskei Nikolett, Vig Andrea Teréz, Nyitrai Miklós, [#Bugyi Beáta](#) ✉, [#Talián Csaba Gábor](#) ✉

Purification of tropomyosin Br-3 and 5NM-1 and characterization of their interactions with actin.

CYTOSKELETON 70 : 11 pp. 755-765. , 11 p. (2013)

IF: 3.007 Folyóiratcikk (Szakcikk) Tudományos

[#megosztott levelező/utolsó szerzős közlemény](#)

Bugyi Beáta, Didry Dominique, Carlier Marie-France ✉

How tropomyosin regulates lamellipodial actin-based motility: a combined biochemical and reconstituted motility approach.

EMBO JOURNAL 29 : 1 pp. 14-26. , 13 p. (2010)

IF: 10.124 Folyóiratcikk (Szakcikk) Tudományos

#Barkó Szilvia, **#Bugyi Beáta**, Carlier Marie-France, Gombos Rita, Matusek Tamás, Mihály József, Nyitrai Miklós ✉
Characterization of the biochemical properties and biological function of the formin homology domains of *Drosophila* DAAM.

JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY 285 : 17 pp. 13154-13169. , 16 p. (2010)

IF: 5.328 Folyóiratcikk (Szakcikk) Tudományos

megosztott első szerzős közlemény

Bugyi Beáta, Carlier Marie-France ✉

Control of actin filament treadmilling in cell motility.

ANNUAL REVIEW OF BIOPHYSICS 39 pp. 449-470. , 22 p. (2010)

IF: 17.524 Folyóiratcikk (Összefoglaló cikk) Tudományos

Romet-Lemonne Guillaume, Helfer Emmanuel, Delatour Vincent, **Bugyi Beáta**, Bosch Montserrat, Romero Stephane, Carlier Marie-France, Schmidt Stephan, Fery Andreas ✉

Biomimetic systems shed light on actin-based motility down to the molecular scale.

BIOPHYSICAL REVIEWS AND LETTERS 4 : 1-2 pp. 5-15. , 11 p. (2009)

Impakt faktor: -, Folyóiratcikk (Szakcikk) Tudományos

Bugyi Beáta, Le Clainche Christophe, Romet-Lemonne Guillaume, Carlier Marie-France ✉

How do in vitro reconstituted actin-based motility assays provide insight into in vivo behavior?

FEBS LETTERS 582 : 14 pp. 2086-2092. , 7 p. (2008)

IF: 3.264 Folyóiratcikk (Összefoglaló cikk) Tudományos

2. tézispont

„A DAAM C-terminálisa (DAD-CT) az aktinnal kialakított direkt kölcsönhatásával a formin homológia domének aktivitásainak pozitív szabályozója, valamint citolinker funkciót tölt be az aktin és a mikrotubulus sejtvezeték működésének összehangolásában.”

Szikora Szilárd, Földi István, Tóth Krisztina, Migh Ede, Vig Andrea Teréz, **Bugyi Beáta**, Maléth József, Hegyi Péter, Kaltenecker Péter, Sanchez-Soriano Natalia, Mihály József ✉

The formin DAAM is required for coordination of the actin and microtubule cytoskeleton in axonal growth cones.

JOURNAL OF CELL SCIENCE 130 : 15 pp. 2506-2519. , 14 p. (2017)

IF: 4.401 Folyóiratcikk (Szakcikk) Tudományos

Vig Andrea Teréz, Földi István, Szikora Szilárd, Migh Ede, Gombos Rita, Tóth Mónika Ágnes, Huber Tamás, Pintér Réka, Csaba Talián Gábor, Mihály József, **Bugyi Beáta** ✉

The activities of the C-terminal regions of the formin protein Dishevelled-associated activator of morphogenesis (DAAM) in actin dynamics.

JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY 292 : 33 pp. 13566-13583. , 18 p. (2017)

IF: 4.01 Folyóiratcikk (Szakcikk) Tudományos

Tóth Mónika Ágnes, Kinga Majoros Andrea, Vig Andrea Teréz, Migh Ede, Nyitrai Miklós, Mihály József, **Bugyi Beáta** ✉

Biochemical activities of the Wiskott-Aldrich syndrome homology region 2 domains of sarcomere length short.

JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY 291 : 2 pp. 667-680. , 14 p. (2016)

IF: 4.125 Folyóiratcikk (Szakcikk) Tudományos

Renault Louis, **Bugyi Beáta**, Carlier Marie-France 
Spire and Cordon-bleu: multifunctional regulators of actin dynamics.
TRENDS IN CELL BIOLOGY 18 : 10 pp. 494-504. , 11 p. (2008)
IF: 13.385 Folyóiratcikk (Összefoglaló cikk) Tudományos

Bugyi Beáta 
Forminfehérjék: aktinösszeszerelő molekuláris gépezetek. MAGYAR TUDOMÁNY 177 : 1 pp. 8-11. , 4 p. (2016)
Folyóiratcikk (Szakcikk) Tudományos

Bugyi Beáta 
Wiskott-Aldrich szindróma fehérje homológ 2 domén: a kirakós sokoldalú eleme.
Biokémia: a Magyar Biokémiai Egyesület folyóirata 39 : 2 pp. 25-35. , 11 p. (2015)
Folyóiratcikk (Szakcikk) Tudományos

3. tézispont

„A Flightless-I nagy affinitású filamentumvég kötése révén az aktin sejtvázdinamika negatív szabályozója. Ugyanakkor a DAAM C-terminálisával (DAD-CT) kialakított direkt kölcsönhatása a sejtváz DAAM közvetített szabályozásában is szerepet játszhat.”

Vemula Venukumar, Huber Tamás, Ušaj Marko, **Bugyi Beáta** , #Mansson Alf 
Myosin and gelsolin cooperate in actin filament severing and actomyosin motor activity.
JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY 296 Paper: 100181 , 16 p. (2021)
IF: 5.485 Folyóiratcikk (Szakcikk) Tudományos
[# megosztott levelező/utolsó szerzős közlemény](#)

Pintér Réka, Huber Tamás, Bukovics Péter, Gaszler Péter, Vig Andrea Teréz, Tóth Mónika Ágnes, Gázsó-Gerhát Gabriella, Farkas Dávid, Migh Ede, Mihály József, **Bugyi Beáta** 
The activities of the gelsolin homology domains of Flightless-I in actin dynamics.
FRONTIERS IN MOLECULAR BIOSCIENCES 7 Paper: 575077 , 18 p. (2020)
IF: 5.246 Folyóiratcikk (Szakcikk) Tudományos

4. tézispont

„Kiépítésre került egy kétcsatornás teljes belső visszaverődésen alapuló fluoreszcencia mikroszkópai rendszer. Illetve kidolgozásra került több más, fluoreszcencia spektroszkópián és szedimentáción alapuló módszertani fejlesztés is az aktin és az aktin:mikrotubulus polimer rendszerek vizsgálatára.”

Pintér Réka, Huber Tamás, Bukovics Péter, Gaszler Péter, Vig Andrea Teréz, Tóth Mónika Ágnes, Gázsó-Gerhát Gabriella, Farkas Dávid, Migh Ede, Mihály József, **Bugyi Beáta** 
The activities of the gelsolin homology domains of Flightless-I in actin dynamics.
FRONTIERS IN MOLECULAR BIOSCIENCES 7 Paper: 575077 , 18 p. (2020)
IF: 5.246 Folyóiratcikk (Szakcikk) Tudományos

Vig Andrea Teréz, Földi István, Szikora Szilárd, Migh Ede, Gombos Rita, Tóth Mónika Ágnes, Huber Tamás, Pintér Réka, Csaba Talián Gábor, Mihály József, **Bugyi Beáta** 
The activities of the C-terminal regions of the formin protein Disheveled-associated activator of morphogenesis (DAAM) in actin dynamics.
JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY 292 : 33 pp. 13566-13583. , 18 p. (2017)
IF: 4.01 Folyóiratcikk (Szakcikk) Tudományos

Szikora Szilárd, Földi István, Tóth Krisztina, Migh Ede, Vig Andrea Teréz, **Bugyi Beáta**, Maléth József, Hegyi Péter, Kaltenecker Péter, Sanchez-Soriano Natalia, Mihály József ✉

The formin DAAM is required for coordination of the actin and microtubule cytoskeleton in axonal growth cones.
JOURNAL OF CELL SCIENCE 130 : 15 pp. 2506-2519. , 14 p. (2017)

IF: 4.401 Folyóiratcikk (Szakcikk) Tudományos

Tóth Mónika Ágnes, Kinga Majoros Andrea, Vig Andrea Teréz, Migh Ede, Nyitrai Miklós, Mihály József, **Bugyi Beáta** ✉

Biochemical activities of the Wiskott-Aldrich syndrome homology region 2 domains of sarcomere length short.
JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY 291 : 2 pp. 667-680. , 14 p. (2016)

IF: 4.125 Folyóiratcikk (Szakcikk) Tudományos

#Barkó Szilvia, **#Bugyi Beáta**, Carlier Marie-France, Gombos Rita, Matusek Tamás, Mihály József, Nyitrai Miklós ✉
Characterization of the biochemical properties and biological function of the formin homology domains of *Drosophila* DAAM.

JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY 285 : 17 pp. 13154-13169. , 16 p. (2010)

IF: 5.328 Folyóiratcikk (Szakcikk) Tudományos

Bugyi Beáta, Matkó János, Nagy Péter, Szöllősi János, Vámosi György, Vereb György

Fénymikroszkópiák a sejtszintű fehérjekutatásban.

In: Buday, L, Nyitrai, László, Perczel, A (szerk.) Ezerarcú fehérjék

Budapest, Magyarország : Semmelweis Kiadó és Multimédia Stúdió (2018) 960 p. pp. 437-483. , 47 p.

ISBN: 9789633314586

Könyvrészlet (Könyvfejezet) Tudományos

1. Bevezetés fejezet

A „1. Bevezetés” fejezet (4-15. oldal) ugyan nem tartalmaz új kísérletes eredményeket, de épít a szerzőként jegyezett publikációimban bemutatott összegzésekre, ez által szorosan kapcsolódik a tudományos munkásságomhoz, ezért tartottam indokoltnak ezeknek a publikációknak a felsorolását is.

#Bugyi Beáta ✉, **#Kellermayer Miklós** ✉

The discovery of actin: “to see what everyone else has seen, and to think what nobody has thought”.

JOURNAL OF MUSCLE RESEARCH AND CELL MOTILITY 41 : 1 pp. 3-9. , 7 p. (2020)

IF: 2.698 Folyóiratcikk (Szakcikk) Tudományos

megosztott utolsó/levelező szerzős közlemény

#Hild Gábor, **#Bugyi Beáta**, Nyitrai Miklós ✉

Conformational dynamics of actin: effectors and implications for biological function.

CYTOSKELETON 67 : 10 pp. 609-629. , 21 p. (2010)

IF: 3.071 Folyóiratcikk (Összefoglaló cikk) Tudományos

megosztott első szerzős közlemény

Bugyi Beáta ✉

Actin and actin binding proteins.

In: Kellermayer, Miklós (szerk.) Muscle Contraction - a Hungarian Perspective

Budapest, Magyarország : Semmelweis Kiadó (2018) 628 p. p. 253

ISBN: 9789633314562

Könyvrészlet (Könyvfejezet) Tudományos

Irodalomjegyzék

1. Sept, D. and J.A. McCammon, *Thermodynamics and kinetics of actin filament nucleation*. Biophys J, 2001. **81**(2): p. 667-74.
2. Nyitrai, L. and G. Pál, *A biokémia és molekuláris biológia alapjai*. 2013.
3. Steinfeld, J.I., J.S. Francisco, and W.L. Hase, *Chemical Kinetics and Dynamics*. 2006.
4. Keszei, E., *A reakciókinetika alapjai*. 2016.
5. Jégou, A. and G. Romet-Lemonne, *The many implications of actin filament helicity*. Semin Cell Dev Biol, 2020. **102**: p. 65-72.
6. Lebreton, G., et al., *Molecular to organismal chirality is induced by the conserved myosin 1D*. Science, 2018. **362**(6417): p. 949-952.
7. Jiang, S., et al., *Structural complexity of filaments formed from the actin and tubulin folds*. Commun Integr Biol, 2016. **9**(6): p. e1242538.
8. Stairs, C.W. and T.J.G. Ettema, *The Archaeal Roots of the Eukaryotic Dynamic Actin Cytoskeleton*. Curr Biol, 2020. **30**(10): p. R521-R526.
9. Stoddard, P.R., et al., *Evolution of polymer formation within the actin superfamily*. Molecular Biology of the Cell, 2017. **28**(19): p. 2461-2469.
10. Wagstaff, J. and J. Lowe, *Prokaryotic cytoskeletons: protein filaments organizing small cells*. Nat Rev Microbiol, 2018. **16**(4): p. 187-201.
11. Izoré, T., et al., *Crenactin from Pyrobaculum calidifontis is closely related to actin in structure and forms steep helical filaments*. FEBS Letters, 2014. **588**(5): p. 776-782.
12. Braun, T., et al., *Archaeal actin from a hyperthermophile forms a single-stranded filament*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2015. **112**(30): p. 9340-9345.
13. Izoré, T., et al., *Crenactin forms actin-like double helical filaments regulated by arcadin-2*. Elife, 2016. **5**.
14. Akil, C., et al., *Mythical origins of the actin cytoskeleton*. Curr Opin Cell Biol, 2021. **68**: p. 55-63.
15. Akil, C., et al., *Insights into the evolution of regulated actin dynamics via characterization of primitive gelsolin/cofilin proteins from Asgard archaea*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2020. **117**(33): p. 19904-19913.
16. Akil, C. and R.C. Robinson, *Genomes of Asgard archaea encode profilins that regulate actin*. Nature, 2018. **562**(7727): p. 439-443.
17. Pollard, T.D., *Actin and Actin-Binding Proteins*. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2016. **8**(8).
18. Valencia, D.A. and M.E. Quinlan, *Formins*. Curr Biol, 2021. **31**(10): p. R517-R522.
19. Kovar, D.R., et al., *Control of the assembly of ATP- and ADP-actin by formins and profilin*. Cell, 2006. **124**(2): p. 423-35.
20. Barkó, S., et al., *Characterization of the biochemical properties and biological function of the formin homology domains of Drosophila DAAM*. J Biol Chem, 2010. **285**(17): p. 13154-69.
21. Higashida, C., et al., *Actin polymerization-driven molecular movement of mDia1 in living cells*. Science, 2004. **303**(5666): p. 2007-10.
22. Bugyi, B., et al., *Formins regulate actin filament flexibility through long range allosteric interactions*. J Biol Chem, 2006. **281**(16): p. 10727-36.
23. Papp, G., et al., *Conformational changes in actin filaments induced by formin binding to the barbed end*. Biophys J, 2006. **91**(7): p. 2564-72.
24. Boiero Sanders, M., A. Antkowiak, and A. Michelot, *Diversity from similarity: cellular strategies for assigning particular identities to actin filaments and networks*. Open Biol, 2020. **10**(9): p. 200157.
25. Homa, K.E., et al., *Arp2/3 complex- and formin-mediated actin cytoskeleton networks facilitate actin binding protein sorting in fission yeast*. Eur J Cell Biol, 2024. **103**(2): p. 151404.

26. Pollard, T.D. and E.M. De La Cruz, *Take advantage of time in your experiments: a guide to simple, informative kinetics assays*. Mol Biol Cell, 2013. **24**(8): p. 1103-10.
27. Pollard, T.D. and J. Berro, *Mathematical models and simulations of cellular processes based on actin filaments*. Journal of Biological Chemistry, 2009. **284**(9): p. 5433-5437.
28. Pelikan Conchaudron, A., et al., *Analysis of tetramethylrhodamine-labeled actin polymerization and interaction with actin regulatory proteins*. J Biol Chem, 2006. **281**(33): p. 24036-47.
29. Kim, T., J.A. Cooper, and D. Sept, *The interaction of capping protein with the barbed end of the actin filament*. J Mol Biol, 2010. **404**(5): p. 794-802.
30. Bhattacharya, N., et al., *Binding of myotrophin/V-1 to actin-capping protein: implications for how capping protein binds to the filament barbed end*. J Biol Chem, 2006. **281**(41): p. 31021-30.
31. Wear, M.A., et al., *How capping protein binds the barbed end of the actin filament*. Curr Biol, 2003. **13**(17): p. 1531-7.
32. Zalevsky, J., et al., *Different WASP family proteins stimulate different Arp2/3 complex-dependent actin-nucleating activities*. Curr Biol, 2001. **11**(24): p. 1903-13.
33. Romero, S., et al., *How ATP hydrolysis controls filament assembly from profilin-actin: implication for formin processivity*. J Biol Chem, 2007. **282**(11): p. 8435-45.
34. Bugyi, B. and M.F. Carlier, *Control of actin filament treadmilling in cell motility*. Annu Rev Biophys, 2010. **39**: p. 449-70.
35. Bugyi, B., D. Didry, and M.F. Carlier, *How tropomyosin regulates lamellipodial actin-based motility: a combined biochemical and reconstituted motility approach*. EMBO J, 2010. **29**(1): p. 14-26.
36. Romet-Lemonne, G., et al., *Biomimetic Systems Shed Light on Actin-Based Motility Down to the Molecular Scale*. Biophysical Reviews and Letters, 2009. **04**(01n02): p. 5-15.
37. Bosch, M., et al., *Analysis of the function of Spire in actin assembly and its synergy with formin and profilin*. Mol Cell, 2007. **28**(4): p. 555-68.
38. Hsiao, J.Y., et al., *Arp2/3 complex and cofilin modulate binding of tropomyosin to branched actin networks*. Curr Biol, 2015. **25**(12): p. 1573-82.
39. Wioland, H., A. Jégou, and G. Romet-Lemonne, *Celebrating 20 years of live single-actin-filament studies with five golden rules*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2022. **119**(3).
40. Amann, K.J. and T.D. Pollard, *Direct real-time observation of actin filament branching mediated by Arp2/3 complex using total internal reflection fluorescence microscopy*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2001. **98**(26): p. 15009-15013.
41. Husson, C., et al., *Cordon-Bleu Uses WH2 Domains as Multifunctional Dynamizers of Actin Filament Assembly*. Molecular Cell, 2011. **43**(3): p. 464-477.
42. Tóth, M.A., et al., *Biochemical activities of the Wiskott-Aldrich syndrome homology region 2 domains of sarcomere length short (SALS) protein*. J Biol Chem, 2016. **291**(2): p. 667-80.
43. Saroj Kumar and Alf, M., *Covalent and non-covalent chemical engineering of actin for biotechnological applications*. Biotechnology Advances, 2017. **35**(7): p. 867-888.
44. Alieva, N.O., et al., *Myosin IIA and formin dependent mechanosensitivity of filopodia adhesion*. Nature Communications, 2019. **10**(1): p. 3593.
45. Sinkó, J.a.G.T.a.C.E.a.S.G.a.E.M., *Polarization sensitive localization based super-resolution microscopy with a birefringent wedge*. Methods and Applications in Fluorescence, 2017. **5**(1): p. 017001.
46. Cao, L., et al., *Modulation of formin processivity by profilin and mechanical tension*. eLife, 2018. **7**.
47. Pintér, R., et al., *The activities of the gelsolin homology domains of Flightless-I in actin dynamics*. Front Mol Biosci, 2020. **7**: p. 575077.
48. Molnár, I., et al., *DAAM is required for thin filament formation and Sarcomerogenesis during muscle development in Drosophila*. PLoS Genet, 2014. **10**(2): p. e1004166.

49. Szikora, S., et al., *The formin DAAM is required for coordination of the actin and microtubule cytoskeleton in axonal growth cones*. J Cell Sci, 2017. **130**(15): p. 2506-2519.
50. Henty-Ridilla, J.L., et al., *Accelerated actin filament polymerization from microtubule plus ends*. Science, 2016. **352**(6288): p. 1004-9.
51. Henty-Ridilla, J.L., *Visualizing Actin and Microtubule Coupling Dynamics In Vitro by Total Internal Reflection Fluorescence (TIRF) Microscopy*. Vol. 185. 2022: 1940-087X. e64074.
52. Elie, A., et al., *Tau co-organizes dynamic microtubule and actin networks*. Scientific Reports, 2015. **5**(1): p. 9964.
53. Denise, M.H.a.R.M.A.a.A.B.J.a.B.L.G., *Species-Specific Functions of Twinfilin in Actin Filament Depolymerization*. Journal of Molecular Biology, 2018. **430**(18, Part B): p. 3323-3336.
54. Bugyi, B., *Actin and actin binding proteins*, in *Muscle contraction: a Hungarian perspective*, M.S. Kellermayer, Editor. 2018, Semmelweis Publishers: Budapest.
55. Kis-Bicskei, N., et al., *Purification of tropomyosin Br-3 and 5NM1 and characterization of their interactions with actin*. Cytoskeleton (Hoboken), 2013. **70**(11): p. 755-65.
56. Bugyi, B., et al., *How do in vitro reconstituted actin-based motility assays provide insight into in vivo behavior?* FEBS Lett, 2008. **582**(14): p. 2086-92.
57. Vig, A.T., et al., *The activities of the C-terminal regions of the formin protein disheveled-associated activator of morphogenesis (DAAM) in actin dynamics*. J Biol Chem, 2017. **292**(33): p. 13566-13583.
58. Renault, L., B. Bugyi, and M.F. Carlier, *Spire and Cordon-bleu: multifunctional regulators of actin dynamics*. Trends Cell Biol, 2008. **18**(10): p. 494-504.
59. Bugyi, B., *Forminfehérjék: aktinösszeszerelő molekuláris gépezetek*. Magyar Tudomány, 2016. **177**(1): p. 4.
60. Bugyi, B., et al., *Fénymikroszkópiák a sejtszintű fehérjekutatásban*, in *Ezerarcú fehérjék*, L. Buday, L. Nyitray, and A. Perczel, Editors. 2018: Semmelweis Kiadó.