

**A HOMOTRIMER SZERKEZET KIALAKULÁSÁNAK VIZSGÁLATA
PROKARIÓTA ÉS EUKARIÓTA dUTPÁZOK ÖSSZEHASONLÍTÓ
SZERKEZET-ANALÍZISE RÉVÉN**

DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

Takács Enikő

okleveles vegyész

Témavezető:

Dr. Vértessy G. Beáta

A biológiai tudományok doktora, Tudományos tanácsadó

Magyar Tudományos Akadémia, Szegedi Biológiai Központ, Enzimológiai Intézet

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológia Doktori iskola

A doktori iskola vezetője:

Prof. Erdei Anna

Szerkezeti Biokémia Program

Programvezető:

Prof. Gráf László



Készült:

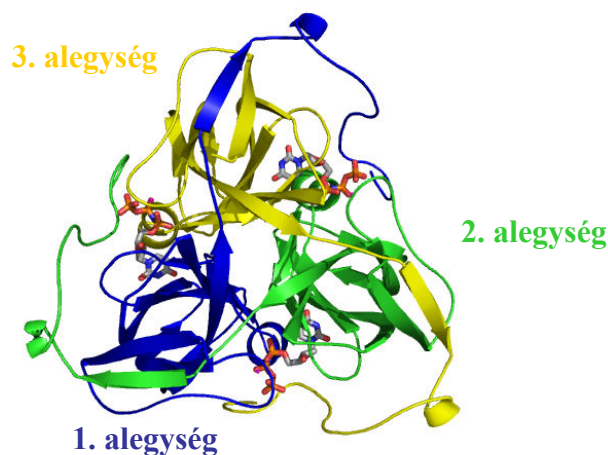
a Magyar Tudományos Akadémia Szegedi Biológiai Központjának Enzimológiai Intézetében

2008.

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

A dezoxiuridin-trifoszfát-nukleotido-hidroláz (dUTPáz) minden önálló életre képes szervezetben megtalálható esszenciális enzim. A katalitikus reakció során az enzim a dUTP hidrolízisével biztosítja a megfelelő sejtbeli dUTP/dTTP arányt, így egy káros folyamat megelőzésével hozzájárul a DNS épségének megőrzéséhez [1].

A legtöbb dUTPáz homotrimer fehérje, melyben három azonos értékű szimmetrikus aktív hely található az alegységek közötti részben (1.1. ábra). A homotrimer egységet három intermolekuláris kölcsönható felszín határozza meg: 1) az egymás melletti alegységek közt kialakuló, 2) a szomszédos monomer fölé hajló C-terminális kar által létesített, és 3) az enzim központi csatornája által formált felszín [2].



1.1. ábra A homotrimer Mtb (*Mycobacterium tuberculosis*) dUTPáz:dUPNPP:Mg²⁺ komplex kristályszerkezete. (PDB kód:2PY4)

Kiterjedt szekvencia elemzések alapján a prokarióta és eukarióta homotrimer dUTPázok alegységeit összetartó nem kovalens kötőerők alapvetően különbözőnek bizonyultak. Míg bakteriális és retrovirális dUTPázokban az enzim központi csatornája apoláris karakterű, eukariótákban poláris aminosavak építik fel [2]. Ez a lényegesnek tűnő különbség vélhetően befolyásolja a prokarióta és eukarióta dUTPázokban lejátszódó katalitikus mechanizmust, illetve megváltoztathatja az enzimek szerkezeti stabilitását. Ezen feltevés tanulmányozásához célul tűztem ki egy prokarióta (*Escherichia coli*) és egy eukarióta (*Drosophila melanogaster*) dUTPáz összehasonlító, elemző analízisét, melynek során elsősorban az enzimek hődenaturációját, a külső környezeti hatásokkal szemben mutatott termodinamikai stabilitását és különböző szubsztrátanalógoknak (dUMP, dUDP és α,β -imido dUTP) a szerkezetekre gyakorolt hatását vizsgáltam és vettem össze.

A három intermolekuláris felszín szerepet játszik a katalitikus funkció és az oligomer szerkezet kialakulásában. Az enzimek egyedi negyedleges szerkezetéből kiindulva – az ismert homotrimer szerkezeteket alapján – választ kerestem arra a kérdésre, hogy milyen erők hatnak

ezen felszínek közt, illetve van-e köztük olyan, melynek kitüntetett szerepe van az oligomer fehérje összetartásában. A *Drosophila* dUTPázról korábbi kísérletekben kiderült, hogy alkohol jelenlétében felbomlik az enzim natív trimer egysége [3]. Mivel az alkohol elsősorban a fehérjék negyedleges és harmadlagos szerkezetét befolyásolja [4, 5], ezért úgy gondoltam, hogy a jelenség tanulmányozása további információt nyújthat az alegységeket összetartó intermolekuláris felszínek egymáshoz viszonyított erejéről. A kérdés megválaszolását elősegítette egy szerencsés körülmény, miszerint a *Drosophila* enzimet sikerült alkohol jelenlétében kristályosítani, melyből kiindulva célul tűztem ki a *Drosophila* dUTPáz alkohol hatására módosult szerkezetének meghatározását, és elemzését.

A kísérletek előrehaladtával a figyelem végül két jelentősnek tűnő szerkezeti elemre összpontosult, melyek kulcsfontosságúak lehetnek a homotrimer dUTPázok oligomerizációs folyamatában. Egyrészt a dUTPázokban megfigyelhető doméncserével járó oligomerizációban vélhetően szerepet játszó konzervált prolin aminosavra, amely a C-terminális kar előtti hurok csuklópozíciójában foglal helyet. Ez a prolin a hipotézis alapján nyitott konformációban tartja a monomert egészen addig, amíg az kölcsönhatásba nem tud lépni egy másik alegységgel a C-terminálisok átlapolása által [6]. Annak érdekében, hogy fény derüljön konzervált prolin tényleges szerepére, kiválasztottam a prokarióta *E. coli*, illetve az eukarióta humán dUTPáz enzimeket és oldatfázisú kísérletek során megvizsgáltam, hogy a prolin alaninra, illetve glicinre történő cseréje milyen hatással van a fehérjék trimer állapotára. A prolin mellett a másik tényező a C-terminális kar, melynek *in silico* vizsgálataink alapján a katalízisben betöltött szerepe mellett jelentős szerkezet-stabilizáló funkció volt tulajdonítható. A kar szerepének bizonyításához összehasonlító vizsgálatokat végeztem a natív és a C-terminális kartól megfosztott humán enzim oligomerizációs fokát és aktivitását illetően.

2. ALKALMAZOTT MÓDSZEREK

A kísérleteimben az *Escherichia coli* (*E. coli*), *Drosophila melanogaster* (*Drosophila*) és a humán dUTPáz fehérjét rekombináns módon BL21 *E. coli* baktériumokban termeltem, így a különböző eredetű dUTPázokat nagy tisztaságban (> 95%), jó kitermeléssel állítottam elő.

Az *E. coli* és a *Drosophila* enzimek hődenaturációjának folyamatát a fehérje fluoreszcencia változásával, differenciális pásztázó mikrokolorimetriával (DSC) és cirkuláris dikroizmus (CD) spektroszkópiával tanulmányoztam. A Mg^{2+} ion és a három különböző szubsztrátanalóg (dUMP, dUDP és α,β -imido dUTP) fehérjék hőstabilitására gyakorolt hatását DSC-vel jellemeztem. Az enzimek másodlagos szerkezeti elemeinek változását a CD spektroszkópia mellett Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópiával is vizsgáltam.

Az *E. coli* és a *Drosophila* dUTPázok kémiai denaturációját a guanidinium hidroklorid (poláris kaotropikus só) egyre növekvő koncentrációjával idéztem elő. A folyamatot fluoreszcencia és cirkuláris dikroizmus (CD) spektroszkópia segítségével tudtam nyomon követni és elemezni.

A dUTPázokat jellemző három különböző intermolekuláris felszín *in silico* összehasonlításához az ismert homotrimer dUTPázok szerkezetét (9 db) elemeztem az on-line elérhető Protein Interaction Calculator szoftver alkalmazásával [7]. A fehérjék oligomerizációjával eltemetődött felszínek nagyságát CCP4 programcsomaggal határoztam meg [8].

A *Drosophila melanogaster* dUTPáz szerkezet-meghatározása során a fehérje kristályosítását és az adatok gyűjtését Dr. Barabás Orsolya röntgenkristallográfus végezte, a szerkezet-meghatározást és finomítást az ő vezetésével már én csináltam.

Irányított mutagenezissel vizsgáltam az *E. coli* és a humán dUTPázok C-terminális karjának csuklópozíciójában elhelyezkedő konzervált prolin aminosav szerepét az enzimek oligomerizációjában. Az előállított mutáns fehérjék (Pro→Ala és Pro→Gly) szerkezeti és funkcionális tanulmányozását aktivitásméréssel, differenciális pásztázó mikrokolorimetria, CD, illetve fluoreszcencia spektroszkópia segítségével végeztem.

A kar nélküli humán mutáns fehérjét ugyancsak irányított mutagenezissel állítottam elő. A vad típusú, prolin mutáns *E. coli* és humán dUTPázok, valamint a karnélküli humán enzim oldatbeli alakját és oligomerizációs állapotát kisszögű röntgenszórás mérésekkel (EMBL-DESY, Hamburg) tanulmányoztam.

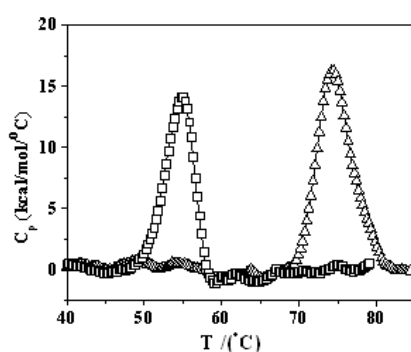
3. TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

Doktori munkám a prokarióta és eukarióta dUTPázok eltérő alegység kölcsönhatásaiból adódó szerkezeti és funkcionális különbségek tanulmányozására, valamint a fehérje oligomerizációját befolyásoló tényezők felderítésére irányult. Főbb megállapításaim a következők:

3.1. A prokarióta *E. coli* és az eukarióta *Drosophila* dUTPáz hődenaturációjának összehasonlítása

3.1.1. Mind a differenciális pásztázó mikrokalorimetria (DSC) és az ezzel párhuzamosan mért hődenaturációs triptofán fluoreszcencia vizsgálatok megmutatták, hogy a homotrimer dUTPázok irreverzibilis kitekeredése egy lépésben, kooperatív módon zajlik le, a trimer disszociációja nem különíthető el a monomerek kitekeredésétől az alkalmazott kísérleti körülmények között.

3.1.2. A prokarióta *Escherichia coli* és az eukarióta *Drosophila melanogaster* dUTPázok DSC-vel vizsgált hődenaturációja alapján megállapítottam, hogy a bakteriális dUTPáz nagyobb hőstabilitással rendelkezik, mint az eukarióta enzim (3.1. ábra).



3.1. ábra A prokarióta *Escherichia coli* (Δ) és az eukarióta *Drosophila melanogaster* (\square) dUTPázok összehasonlító hődenaturációs vizsgálata.

3.1.3. Kísérleteim alapján a *Drosophila* dUTPáz hődenaturációval szemben mutatott stabilitása Mg^{2+} ion kofaktor hatására kismértékben, de határozottan megnőtt, az *E. coli* enzim szerkezeti stabilitását azonban nem befolyásolta a fémion (Mg^{2+}) jelenléte. Ezen eredmény alapján valószínűsíthető, hogy a Mg^{2+} ion nemcsak katalitikus kofaktorként fontos az eukarióta enzim számára, de szerepet játszik az acetmuslica szerkezetének stabilizálásában is.

3.1.4. Az eukarióta dUTPáz esetében a szubsztrátanalógok (dUMP, dUDP illetve α,β -imido dUTP) jelenléte megnövelte az enzim hőstabilitását. A bakteriális enzim hődenaturációs kísérletei során ilyen jellegű változást nem észleltem a ligandumok hozzáadást követően. Ezen kísérletek eredményét összevetve a már meglévő enzim:ligandum kristályszerkezetekkel,

valószínűsítettem, hogy a szubsztrátanalógok kötődése a C-terminális kar rendeződésén túl egyéb, allosztérikus konformációs változásokat is okoz a *Drosophila* dUTPázon belül, és ezek vezetnek végül a termodinamikai stabilitás növekedéséhez [3]. Ez az eukarióta dUTPázra jellemző fokozott érzékenység feltehetően elősegíti a magasabbrendű szervezet sejtbeli folyamatainak, illetve egyensúlyainak finomabb szabályozását [9].

3.2. A másodlagos szerkezet változása a homotrimer dUTPázok hődenaturációja során

3.2.1. Méréstechnikai okok miatt CD spektroszkópiával nem sikerült meghatároznom a vizsgált eukarióta és prokarióta dUTPázokban található másodlagos szerkezeti elemek százalékos arányának változását a hődenaturáció során. Oldatfázisú Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópia (FT-IR) kísérletekkel azonban kimutattam, hogy a dUTPázok nem tekerednek ki teljes mértékben a hődenaturáció folyamán, a kialakuló rendezetlen szakaszok mellett mindig maradnak részlegesen ép α -hélix, vagy nyújtott β -szálas szerkezetek a fehérjében, azonban a denaturációt kísérő aggregáció irreverzibilissé tette a folyamatot.

3.3. A homotrimer dUTPázok kémiai denaturáló ágensekkel szemben mutatott stabilitása

3.3.1. Kimutattam, hogy az *E. coli* és a *Drosophila* dUTPáz kémiai denaturációja – a hő hatására történő kitekeredésükkel ellentétben – reverzibilis folyamat. Az eukarióta dUTPáz bakteriális enzimhez viszonyított kisebb szerkezeti stabilitása a kaotropikus sók denaturáló hatásával szemben is beigazolódott. Fluoreszcens és CD spektroszkópiai mérések alapján megállapítottam, hogy az enzimek másodlagos szerkezetének átalakulása már kis mennyiségű denaturálószer jelenlétében megkezdődik, melyet a fehérjék gyors, egylépcsős kooperatív kitekeredése követ, megfigyelhető intermedierek kialakulása nélkül.

Az *E. coli* dUTPáz *Drosophila* enzimmel szemben fennálló nagyobb szerkezeti stabilitása feltehetően annak köszönhető, hogy az *E. coli* enzim központi csatornájában az apoláros oldalláncok által kialakított hidrofób felszín nagyobb konformációs és termodinamikai stabilitást biztosít a fehérje számára, mint amilyen a polárisabb központi csatornát felmutató eukarióta *Drosophila* dUTPáz rendelkezik.

3.4. A homotrimer dUTPázok intermolekuláris kölcsönhatásainak összehasonlítása

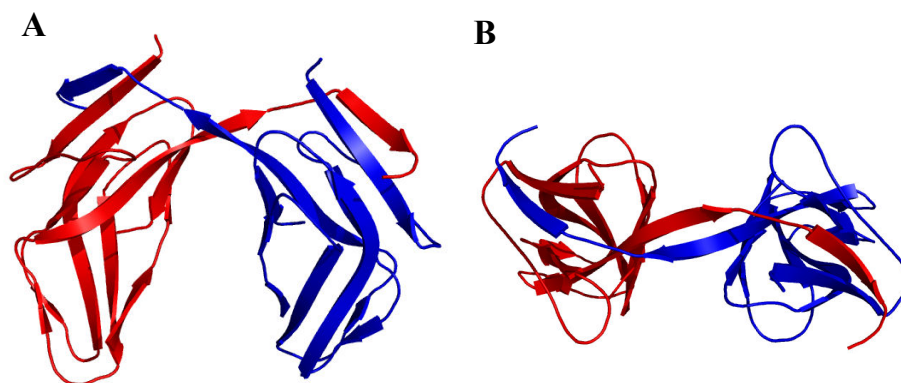
3.4.1. Az ismert homotrimer dUTPázok szerkezetének összehasonlítása alapján megállapítottam, hogy a dUTPáz molekulák oldószer számára hozzáférhető felületének csökkenése (~36 %) az oligomerizáció során lényegesen nagyobb, mint azt más trimer (17,4 %), illetve tetramer (20,9 %) fehérjék esetében tapasztalták [10]. Ez az eredmény rávilágít a homotrimer dUTPáz egység

erősségére és szerveztségére, melyet a fehérjében található intermolekuláris felületek közti kölcsönhatások biztosítanak.

3.4.2. A homotrimer dUTPázok kölcsönható felszíneinek (alegységek közti páros, háromfogású csatornát jellemző és az átlapoló karok által kialakított) részletes és összehasonlító jellemzésével beigazolódott, hogy az alegységek közt létrejövő kölcsönhatások főként hidrofób jellegűek, illetve H-hidakon keresztül alakulnak ki és csak kis százalékban találkozunk ionos kötésekkel. A központi csatornát kialakító felszínek közt ugyancsak a hidrofób, illetve hidrogén hidas kötőerők uralkodnak. A három intermolekuláris határfelületet összehasonlítva egyértelművé vált, hogy a C-terminális karok átlapolása során létesül a legtöbb kölcsönhatás, akár hidrofób, vagy ionos kötésről, illetve a H-hidak számáról van szó. Összefoglalva, a homotrimer dUTPázokban a legfőbb összetartó erőnek az alegységek közti hidrofób kölcsönhatások és a C-terminális karok által létesített kötések bizonyultak.

3.5. Az intermolekuláris kölcsönhatások relatív erőssége a *Drosophila melanogaster* dUTPáz szerkezetének tükrében

3.5.1. A *Drosophila melanogaster* dUTPáz fehérjét csak alkoholt (izopropanolt, illetve MPD-t) is tartalmazó oldatból sikerült kristályosítani. Az enzim kristályszerkezetének meghatározását Dr. Barabás Orsolya segítségével végeztem. Megállapítottam, hogy a szerkezetben megjelenő fehérje alegységeket 8 β -szál alkotja, amelyek egymással antiparallel módon kapcsolódva a homotrimer dUTPázokra jellemző "lekváros tekercs" motívumot hozzák létre (3.2. ábra)



3.2. ábra A *Drosophila melanogaster* dUTPáz kristályszerkezete. (A) *Drosophila* dUTPáz oldalnézetből (B) *Drosophila* dUTPáz felülnézetből.

3.5.2. Oldatfázisú kísérletek alapján a *Drosophila* dUTPáz trimer egységként katalitikusan aktív, a fehérjekristály elemi cellájában azonban homodimer molekulaként volt jelen az enzim, amely feltehetően a szélsőséges kristályosítási körülményeknek (25-30 % MPD, pH=4.6-4.8) köszönhetően jött létre. A közeli homológ humán dUTPáz és a *Drosophila* enzim kristályszerkezetének egymásra illesztésével megállapítottam, hogy a két eukarióta enzim

alegységeinek harmadlagos szerkezete nagyon jó egyezést mutat, azonban a C-terminális karok iránya lényegesen eltért egymástól. A dimer *Drosophila* dUTPáz C-terminális karjának eltérő orientációja a monomerek eltávolodásához vezetett, így a háromféle intermolekuláris felszínből egyedül a C-terminális karok átlapolásával kialakított határfelületek maradtak meg (3.2. ábra). Ez a szerkezet is rávilágított a trimer enzim létrejöttében elsődleges tényezőre, a szomszédos alegységbe épülő C-terminális karok összetartó erejére.

3.6. A dUTPázok oligomerizációját meghatározó tényezők vizsgálata

3.6.1. Az ismert homotrimer dUTPáz szerkezetek és aminosav szekvenciák összehasonlításával megállapítottam, hogy a legtöbb enzim IV. és V. konzervált szekvencia motívuma közt található konzervált prolin aminosav a C-terminális karok csuklópozíciójában helyezkedik el. A vizsgált szerkezetek alapján azonban az is nyilvánvalóvá vált, hogy a néhány homotrimer dUTPáz esetében a csuklópozícióban lévő prolin nem lehet az oligomerizáció kulcsa, ugyanis vagy egyáltalán nem szerepel a kérdéses fehérje régióban (*Mycobacterium tuberculosis* dUTPáz), vagy a csuklópozíciótól távol helyezkedik el (Equine Infectious Anemia Virus dUTPáz).

3.6.2. A csuklópozícióban helyet foglaló prolin alaninre, vagy glicinre történő mutációja nem befolyásolja sem az *E. coli* sem a humán dUTPázok negyedleges szerkezetét, ahogy ezt gélfiltrációs kísérleteim kimutatták.

3.6.3. A DSC mérésekkel meghatározott hőkapacitás görbék, valamint a fluoreszcencia, illetve CD spektroszkópiával követett hő hatására bekövetkező változások arra utaltak, hogy a dUTPázok hődenaturációja a prolin szubsztitúcióját követően is egy lépésben, kooperatív módon zajlik. Megmutattam, hogy mind a vad típusú, mind a prolin mutáns *E. coli* dUTPázok nagyobb termodinamikai stabilitással bírnak, mint a humán enzimek. Eredményeim alapján bebizonyosodott, hogy a homotrimer dUTPázok C-terminális karjának csuklópozíciójában található konzervált prolin nem elengedhetetlen feltétele az aktív trimer enzim létrejöttének. Ezen aminosav hiányában azonban feltehetően lecsökken a kar prolin által biztosított merevsége, ami a régió megnövekedett flexibilitása miatt a fehérjék csökkent termodinamikai stabilitásához és katalitikus aktivitásához vezetett. Mindezek alapján valószínűsíthető, hogy a dUTPázok oligomerizációja nem pusztán egy aminosav jelenlététől függ, hanem egy összetettebb, kevésbé sérülékeny, de máig ismeretlen mechanizmus eredménye, hiszen olyan eszenciális enzimről van szó, melyben az enzimreakció kulcsa az oligomer szerkezetben van.

3.6.4. A homotrimer humán dUTPáz utolsó 27 aminosav hosszúságú szakaszának levágásával, a fehérje kristályszerkezete alapján a C-terminális karok szomszédos alegységekkel történő átlapoló kölcsönhatása megszűnik. A natív körülmények között elvégzett analitikai gélszűrés

alapján megállapítottam, hogy a csonkolt humán fehérje oldatban monomer állapotú. A fehérje katalitikus inaktivitását a trimer szerveződés hiánya okozta, mely nem tette lehetővé az aktív centrumok kialakulását.

3.6.5. A vad típusú és prolin mutáns *E. coli*, vagy humán dUTPázokkal, valamint a karnélküli humán enzimmel végzett oldatfázisú kisszögű röntgenszórás (SAXS) kísérletek során megerősítettem, hogy a konzervált helyzetű aminosav hiánya nem befolyásolja a trimer enzim kialakulását, a C-terminális karok átlapolása azonban elengedhetetlen az aktív homotrimer dUTPáz létrejöttéhez.

3.6.6. Az oldatfázisú SAXS kísérletek alapján sikerült azt is megállapítanom, hogy a klasszikus háromdimenziós doméncserével kialakuló enzimek közül az *E. coli* dUTPáz C-terminális karja jóval rendezetlenebb, mint a humán enzimé. A bakteriális enzim C-terminális karját jellemző fokozott felxibilitás feltehetőleg elősegíti a szubsztrátkötődés megbízhatóbb termodinamikai szabályozását, illetve a külső környezet változásaival szemben mutatott kisebb érzékenységet is.

Összefoglalva, oldatfázisú kísérleteim alapján megállapítottam, hogy a dUTPázok klasszikus doméncserével kialakult szerkezetében a C-terminális karok nélkülözhetetlen szerepet töltenek be a katalízisben és az oligomerizáció folyamatában egyaránt. Azon kivételes dUTPázok esetében melyekben nem a C-terminális karcsere tartja össze a trimert (*Plasmodium falciparum*, a malária kórokozójának dUTPázában) [11], az eltérő kölcsönható felszínek lehetővé teszik új fajspecifikus inhibitorok tervezését.

4. IRODALOMJEGYZÉK

1. Vertessy, B. G. and Toth, J.; (2008) Keeping uracil out of DNA: physiological role, structure and catalytic mechanism of dUTPases. *Accounts of Chemical Research*, **in press**.
2. Fiser, A. and Vertessy, B. G.; (2000) Altered Subunit Communication in Subfamilies of Trimeric dUTPases. *Biochem Biophys Res Commun*, **279**, 534-542.
3. Kovari, J., Barabas, O., Takacs, E., Bekesi, A., Dubrovay, Z., Pongracz, V., Zagyva, I., Imre, T., Szabo, P. and Vertessy, B. G.; (2004) Altered active site flexibility and a structural metal-binding site in eukaryotic dUTPase: kinetic characterization, folding, and crystallographic studies of the homotrimeric Drosophila enzyme. *J Biol Chem*, **279**, 17932-17944.
4. Babu, K. R. and Douglas, D. J.; (2000) Methanol-induced conformations of myoglobin at pH 4.0. *Biochemistry*, **39**, 14702-14710.
5. Babu, K. R., Moradian, A. and Douglas, D. J.; (2001) The methanol-induced conformational transitions of beta-lactoglobulin, cytochrome c, and ubiquitin at low pH: a study by electrospray ionization mass spectrometry. *J Am Soc Mass Spectrom*, **12**, 317-328.
6. Bergdoll, M., Remy, M. H., Cagnon, C., Masson, J. M. and Dumas, P.; (1997) Proline-dependent oligomerization with arm exchange. *Structure*, **5**, 391-401.
7. Tina, K. G., Bhadra, R. and Srinivasan, N.; (2007) PIC: Protein Interactions Calculator. *Nucleic Acids Res*, **35**, W473-476.
8. Collaborative Computational Project, N.; (1994) The CCP4 suite: programs for protein crystallography. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*, **50**, 760-763.
9. Dubrovay, Z., Gaspari, Z., Hunyadi-Gulyas, E., Medzihradsky, K. F., Perczel, A. and Vertessy, B. G.; (2004) Multidimensional NMR identifies the conformational shift essential for catalytic competence in the 60-kDa Drosophila melanogaster dUTPase trimer. *J Biol Chem*, **279**, 17945-17950.
10. Argos, P.; (1988) An investigation of protein subunit and domain interfaces. *Protein Eng*, **2**, 101-113.
11. Nemeth-Pongracz, V. et al.; (2007) Flexible segments modulate co-folding of dUTPase and nucleocapsid proteins. *Nucleic Acids Res*, **35**, 495-505.

5. PUBLIKÁCIÓS JEGYZÉK

Referált tudományos folyóiratban megjelent közlemények:

- 1) **Takács, E.**, Grolmusz, V. K. and Vértessy B. G.
"A tradeoff between protein stability and conformational mobility in homotrimeric dUTPases"
FEBS Letters 2004; 566 (1-3):48-54.
- 2) Kovári, J., Barabás, O., **Takács, E.**, Békési, A., Dubrovay, Zs., Pongrácz, V., Zagyva, I., Imre, T., Szabó, P. and Vértessy, B. G.
"Altered active site flexibility and a structural metal-binding site in eukaryotic dUTPases"
J. Biol. Chem. 2004, 279 (17):17932-17944.
- 3) **Takács, E.**, Barabás, O., Petoukhov, M., Svergun, D., Vértessy, B.G.
"Prominent role of β -strand swapping in organization of dUTPase oligomers is revealed by a novel dimeric dUTPase structure"
Nucleic Acids, Res. 2008, Submitted

Poszter előadások (előadó neve aláhúzva):

- 1) Kovári, J., Békési, A., Barabás, O., Dubrovay, Zs., Zagyva, I., **Takács, E.**, Szabó, P., Imre, T., Erdei, A., Perczel, A., Vértessy, B. G.
”*dUTPase-dependent preventive DNA repair via exclusion of uracil*”
Eur. J. Biochem, 269 PS1 41, 28th Meeting of the Federation of European Biochemical Societies, 2002, Istanbul, Turkey
- 2) Barabás, O., Dubrovay, Zs., Harmat, V., Kovári, J., **Takács, E.**, Zagyva I., Náráy-Szabó G., Vértessy, B. G.
”*Structural studies of Drosophila melanogaster dUTPase*”
XIX Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography, Acta Cryst. **A58** (supplement), C96., 2002, Geneva, Switzerland.
- 3) Kovári, J., Békési, A., **Takács, E.**, Szavicskó, I., Pongrácz, V., Barabás, O., Szabó. P., Vértessy B. G.
”*Ecetmuslica dUTPáz: Eukarióta model az enzimműködés evolúciójának tanulmányozása*”
A Magyar Biokémiai Egyesület Molekuláris Biológiai Szakosztályának 7. munkaértekezlete, 2002, Keszthely, Magyarország
- 4) Békési, A., Kovári, J., Barabás, O., **Takács, E.**, Szavicskó, I., Szabó, P., Vértessy B. G.
”*Drosophila melanogaster dUTPase: a preventive DNA repair factor*”
EACR 17, 17th Meeting of the EUROPEAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, 2002, Granada, Spain
- 5) **Takács, E.**, Grolmusz, V. K., Kovári, J., Vértessy, B. G.
”*Egy homotrimer enzimcsalád folding vizsgálata*”
A Magyar Biokémiai Egyesület Molekuláris Biológiai Szakosztályának 8. munkaértekezlete, 2003, Tihany, Magyarország
- 6) **Takács, E.**, Barabás, O., Grolmusz, V. K., Vértessy B. G.
”*Stability is a price to pay for fine-tuned regulation during evolution of homotrimeric dUTPases*”
29th Meeting of the Federation of European Biochemical Societies, P3.2-40; 2004, Warsaw, Poland
- 7) **Takács, E.**, Dubrovay, Zs., Barabás, O., Grolmusz, V. K., Vértessy B. G.
”*Same fold, but altered responsibility in the evolution of dUTPase homotrimer*”
30th Meeting of the Federation of European Biochemical Societies; A2-077P; 2005, Budapest, Hungary;
- 8) **Takács, E.**, Békési, A., Vértessy B. G.
”*Puzzles in formation of trimeric dUTPases*”
31th Meeting of the Federation of European Biochemical Societies, PP-864; 2006, Istanbul, Turkey

Konferenciákon tartott szakmai előadások:

- 1) **Takács, E.**, Barabás, O., Grolmusz, V. K., Vértessy B. G.
”*A homotrimer dUTPázok folding vizsgálata*”
XXVI. Kémiai Országos Tudományos Diákköri Konferencia, Biokémia szekció, harmadik helyezés; 2003, Budapest, Magyarország
- 2) **Takács, E.**, Barabás, O., Svergun, D., Grolmusz, V. K., Vértessy B.
”*The more evolved the more sensitive: evolution of homotrimeric dUTPases involves a loss of stability and a gain of responsibility*”
Straub Meeting of the Biological Research Center, Hung. Acad. Sci., 2004, Szeged, Hungary
- 3) **Takács, E.**, Barabás, O., Varga, B., Békési, A., Vértessy B. G.
”*Fold, function and interacting network of dUTPases*”
SPINE2-Kick-off Meeting, 2007, Paris, France