A DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

A *DROSOPHILA MELANOGASTER* 26S PROTEASZÓMA RPT1 ALEGYSÉGÉNEK MOLEKULÁRIS GENETIKAI ÉS FUNKCIONÁLIS VIZSGÁLATA

SZABÓ ÁRON

Témavezető: Udvardy Andor, Ph.D., D.Sc.

Magyar Tudományos Akadémia Szegedi Biológiai Kutatóintézete
Biokémiai Intézet
Intracelluláris fehérjelebontás csoport

SZEGED

2007

Bevezetés

Az eukarióta szervezetek sejtszintű homeosztázisának fenntartásához számtalan szabályozó folyamat finoman irányított koordinációja szükséges. Az egyik, leginkább az utóbbi másfél évtizedben megismert fontosságú szabályozás ezekben az élőlényekben a 26S proteaszómán keresztül valósul meg. Ez a 2 MDa-nál nagyobb tömegű, sok alegységből felépülő, szabályozott aktivitású proteáz képes lebontani azokat a fehérjéket, melyek az ubiquitin elnevezésű, kis polipeptid négy, vagy annál több tagból álló polimerjével kovalensen kapcsoltak. Ez az erős fehérje-fehérje kapcsolat három enzim működésének köszönhető, amelyek sejtben előforduló típusait összefoglalva ubiquitin ligáz rendszernek nevezik. Az ubiquitilált fehérjék szállítását és proteaszóma általi felismerését proteaszómális és a komplexhez csupán lazán kapcsolódó fehérjék végzik. A 26S proteaszóma két nagy komponensből, a 19S vagy regulátor és 20S vagy katalitikus komplexből épül fel. Egy, a proteolízis végrehajtásáért felelős katalitikus komplexhez egy vagy két, a proteolízis szabályozott lefolytatását és a multiubiquitilált fehérjék felismerését és processzálását végző regulátor komplex csatlakozik annak egyik vagy mindkét végén. A regulátor komplexek szerkezetileg és feltehetőleg funkcionálisan is két részre, az alap és fedő alkomplexekre tagolódnak. Az alap alkomplex közvetlenül kapcsolódik a 20S partikulumhoz, annak külső gyűrűjéhez, míg a fedő alkomplex az alapra épülve, a 20S komplextől távolabb helyezkedik el. Az alap alkomplexet felépítő fehérjék háromféle fő funkcionális csoportba tartoznak. A p54/Rpn10/S5a fehérje a regulátor komplex fő multiubiquitin receptora. A p110 és p97 alegységek a regulátor komplex strukturális bázisát képezik, sok fehérje-fehérje kapcsolatot létesítenek a komplexen belül, valamint a proteaszómához lazán asszociált fehérjékkel. Végül az alap alkomplexhez tartozik hat darab ATPáz alegység, amelyek gyűrű alakban egymáshoz és a 20S komplexhez kapcsolódnak. Ezeknek az AAA családba tartozó ATPázoknak mindegyike egyéni funkcióval rendelkezik a pékélesztőben, tehát nem redundánsak. Vizsgálatuk azonban csupán a kezdeti fázisban van még a sarjadzó élesztőben is, míg a magasabbrendű eukariótákban nagyon kevés információ áll rendelkezésre ezekről az alegységekről.

Célkitűzések

A proteaszómális ATPázok egyedi tulajdonságai, különösen komplex felépítésű eukariótákban, még kevéssé ismertek. Ma már a *Drosophila melanogaster*-ben P-elemek által okozott mutációk gyűjteménye széles körben hozzáférhető. Kutatásaink során célul tűztük ki, hogy *Drosophila* mutánsok vizsgálatával a regulátor komplex ATPáz tagjainak, köztük az Rpt1-nek a funkcióját mélyebben megértsük. Vizsgáltuk egy hipomorf *Rpt1* mutáns törzsben:

- a mutáció hatásmechanizmusát
- a proteaszóma szerkezeti összetettségét
- a multiubiquitinált fehérjék és szubsztrátfehérjék felszaporodását
- az Rpt1 foszforiláltságát és kromatinhoz való kapcsolódását
- a Rad23B fehérje előfordulását
- a mutáció mitotikus jellemzőit és genetikai interakcióit.

Feltételezésünk szerint az *Rpt1* mutánsok fényt derítenek ennek az alegységnek a proteaszóma szerveződésében, szabályozásában, szubsztrátfelismerésében és transzkripciót befolyásoló működésében betöltött esetleges szerepére.

Alkalmazott módszerek

- Rekombináns DNS technikák
- Polimeráz láncreakció (PCR)
- Inverz PCR
- Szemikvantitatív reverz transzkripció kapcsolt PCR (RT-PCR)
- Real-time PCR
- DNS szekvenálás
- P-elem remobilizáció
- P-elem transzformáció
- Natív gélelektroforézis
- Western blot analízis

- Kétdimenziós gélelektroforézis
- Gélszűrési kromatográfia
- Foszfatáz kezelés
- Nyálmirigy óriáskromoszóma preparálás és immunfestés
- Neuroblaszt preparálás és citológiai jellemzés

Eredmények

I. Az *Rpt1* gén genetikai jellemzése

Négy olyan P-elem mutáns törzs található meg a bloomingtoni és szegedi *Drosophila melanogaster* törzsközpontokban, amelyben a P-elem beépülése feltehetően az *Rpt1* gént érinti. Kísérleteink elvégzéséhez mind a négy fellelhető mutánst ($Rpt1^{05643}$, $Rpt1^{k11110}$, $Rpt1^{l(2)SH0675}$ és $Rpt1^{EP(2)2153}$) beszereztük, valamint egy etil-metán-szulfonáttal (EMS) végzett mutagenezisből származó *Rpt1* allélt, az $Rpt1^{43Ed-1}$ -t is. Az *Rpt1* gén a *CG17985* gén második intronjában foglal helyet, tehát az *Rpt1* tulajdonképpen gén a génben. A *CG17985* egy annotált, de még nem jellemzett gén. A P-elem integrációk inverz PCR-rel nyert adatok alapján $Rpt1^{05643}$, az $Rpt1^{k11110}$ és az $Rpt1^{l(2)SH0675}$ allélek esetén az *Rpt1* gén 5' nem-transzlált régiójának 31. és 32. bázispárja közé, illetve a $Rpt1^{EP(2)2153}$ allél esetén 5' nem-transzlált régiójának 22. és 23. bázispárja közé történtek. A négy P-elem inzercióra homozigóta állatok fenotípusát vizsgálva kiderült, hogy az $Rpt1^{05643}$, $Rpt1^{k11110}$ és $Rpt1^{EP(2)2153}$ allélok recesszív második lárvastádiumú (L2) letalitást, míg a $Rpt1^{l(2)SH0675}$ allél recesszív bábletalitást eredményeztek. Az $Rpt1^{43Ed-1}$ –t hordozó DNS szakaszt szekvenáltatva kiderült, hogy ennél egy mutáció glicin→aszparaginsav aminosavcserét okoz az Rpt1 fehérje 382. helyén. Ez az allél recesszív második lárvastádiumú letalitást mutatott. Komplementációs tesztekben, egymással és a régiót lefedő deléciókkal szemben az Rpt1 allélok nem mutattak komplementációt, kivéve az $Rpt1^{43Ed-1}$ –t, amely delécióval szemben L2 helyett bábletalitást okozott.

Az Rpt1 gén genomi elhelyezkedése megnehezítette a P-elem mutáns fenotípusok értékelését, hiszen a nagyjából 11 kilobázispárnyi integrálódott P-elem szekvencia nem csak az *Rpt1*, de a *CG17985* gén funkcióját is károsíthatta. Ezért elhatároztuk, hogy valamilyen módon módosítjuk az egyik allélt azért, hogy a *CG17985* gén ne legyen a mutáció által érintett. Ezért

döntöttünk az *Rpt1*^{k11110} P-elem remobilizálása mellett. Az *Rpt1*^{k11110} P-elem kivágódásakor többféle méretű, a P-elem végeit tartalmazó szekvencia maradt az eredeti P-elem helyén. A szekvenálással kapott eredmények két csoportba osztották a mutánsokat: a recesszív L2 letalitásúakban 250-1000 bp maradt vissza a P-elem két végéből az eredeti inzerció helyén, míg a recesszív bábletálisokban 24-160 bp. Tehát a hosszabb inzerció korábbi letálfázist okoz.

Minthogy a *CG17985* gén mutációjának továbbra is fennállt a lehetősége, az egyes homozigóta *Rpt1* mutánsokat az *Rpt1*-et ektopikusan expresszáló transzgén segítségével próbáltuk menekíteni. Az *Rpt1* teljes kódoló régióját az *Ubi63E* ubiquitin gén enhancer-promotere után klónoztuk és pCaSpeR4 *Drosophila* transzformációs vektorban embriók csíravonalába injektáltuk. A homozigóta mutációt és a menekítő konstruktot hordozó állatok a *Rpt1*^{P1} bábletális excíziós mutáns esetében kikeltek és szaporodtak, tehát ezeknél sikerült helyreállítani az *Rpt1* gén funkcióját a gén ektopikus expressziójával. Az *Rpt1*^{L15}, *Rpt1*^{05643} és *Rpt1*^{k11110} L2 letális mutációkat a felhasznált menekítő konstrukt még homozigóta formában sem menekítette bábállapotnál tovább. Ez a részleges menekítés arra utalhat, hogy az L2 letális törzsekben az *Rpt1* mutációja mellett sérül a *CG17985* gén expressziója és/vagy splicingja is és ezen gén terméke nélkülözhetetlen a *Drosophila* egyedfejlődéséhez.

Részlegesen menekített, *Rpt1*^{L15} mutációra homozigóta bábok, valamint homozigóta *Rpt1*$^{l(2)SH0675}$ bábok relatív *Rpt1* mRNS tartalmát kívántuk megvizsgálni annak eldöntésére, hogy egyrészt milyen mértékben sikerült az *Rpt1*^{L15} homozigóta mutánsban az *Rpt1* gén hibáját menekíteni, másrészt hogy minek tudható be az *Rpt1*$^{l(2)SH0675}$ mutáns bábletális fenotípusa. Reverz transzkripció kapcsolt PCR-rel kiderült, hogy a menekített homozigóta *Rpt1*^{L15} mutánsban az *Rpt1* mRNS mennyisége kissé magasabb, míg a homozigóta *Rpt1*$^{l(2)SH0675}$ mutánsban körülbelül ugyanannyi, mint a *w*^{1118} bábokban. Tehát az *Rpt1*^{L15}-ös mutáns menekítése teljes az *Rpt1* génre nézve, vagyis a bábletalitásért egy másik mutáció, feltehetőleg a *CG17985* gén transzkripciójának P-elem maradék általi elrontása felelős. Az *Rpt1* mRNS szint azt jelzi, hogy az *Rpt1*$^{l(2)SH0675}$ mutáció letalitása valószínűleg csupán kis részben az *Rpt1* gén elrontásának a következménye, a P-elem inkább a *CG17985* génben okozhat hibát.

További kísérletek során RT-PCR-rel sikerült megállapítanunk, hogy a *Rpt1*^{P1} bábletális mutánsban a *CG17985* mRNS megközelítőleg ugyanolyan mennyiségben van jelen, mint vad *w*^{1118} bábokban. Tehát a *Rpt1*^{P1} mutánsban a *CG17985* gén nem sérül, legalábbis az ezzel a módszerrel kimutatható mértékig.

II. Az *Rpt1* allélok molekuláris analízise

Az *Rpt1*^{P1} mutáns jellemzése meggyőzött minket arról, hogy ez a mutáció csupán az Rpt1-et érinti. A mutáció hatásmechanizmusát az *Rpt1* gén promoterének részletesebb vizsgálatával derítettük ki. Az *Rpt1* szorosan vett promotere nem tartalmaz TATA box szekvenciát, hanem a TATA nélküli promoterek egy családjának iniciátor (Inr) és downstream promoter element (DPE) szekvenciáit használja a transzkripció iniciációjára. Mind a négy P-elem, amely az 5'-UTR-be inszertálódott, a két promoter elem közé ékelődött be. Tehát a *Rpt1*^{P1} és az összes másik báb- és lárvális letális excíziós mutáns tartalmazza a DPE-t és az iniciátor szekvenciát is, csupán a P-elem maradéknak megfelelően nagyobb távolság van a kettő között. A nagyobb távolság irodalmi adatok alapján értelemszerűen kisebb transzkripciós hatékonyságot von maga után. Így értelmezhető lenne a báb- és lárvaletális excíziós mutánsok letálfázisa és a bennük található P-elem maradékok hossza közti összefüggés. A kisebb távolság nagyobb, míg a nagyobb távolság kisebb transzkripciós efficienciával jár.

Azért, hogy megvizsgáljuk az idegen szekvencia hatását a transzkripcióra, szemikvantitatív módon összehasonlítottuk az *Rpt1* mRNS mennyiségét *w*^{1118} és *Rpt1*^{P1} mutáns bábokban reverz transzkripcióval kapcsolt PCR-t használva. Az *Rpt1* mRNS koncentráció jelentősen csökkent a *Rpt1*^{P1} mutánsban a vad típushoz képest. Kvantitív real-time PCR-t is használtunk a *w*^{1118} és *Rpt1*^{P1} mutáns bábok *Rpt1* mRNS tartalmának összehasonlítására. A 18S rRNS-re normált mintákban a relatív *Rpt1* mRNS koncentráció átlagosan harmincszor kisebbnek mutatkozott a *Rpt1*^{P1} mutánsban, mint a vad típusban, három pár független RNS preparátumot mérve. Kiderült tehát, hogy a bábletális *Rpt1*^{P1} mutáció az *Rpt1* génnek egy hipomorf allélja.

A real-time PCR felvetette az a kérdést, hogy csupán az *Rpt1* mRNS tartalom, vagy az Rpt1 fehérjetartalom is változik a mutáns esetében. Az immunobloton detektált, Rpt1 magasságában reagáló sáv jelentősen vékonyabb volt az *Rpt1*^{P1} mutánsban, mint a vad típusban. Tehát nemcsak az *Rpt1* mRNS, de a fehérjemennyiség is lecsökken a *Rpt1*^{P1} mutánsban.

III. A *Rpt1*^{P1} mutáció biokémiai következményei

Az Rpt1 specifikus ellenanyag nemcsak egy, de három, egymáshoz közel futó Rpt1 formát ismert fel az immunobloton. Mivel az emberi Rpt1 foszforilálódik, feltételeztük, hogy ebben az esetben is ezt látjuk. Ennek kipróbálására két dimenziós gélelektroforézisnek vetettünk alá w^{1118} és *Rpt1*^{P1} mutáns bábokból nyert preparátumokat. A bloton jól látható volt hat elkülönülő Rpt1 forma, amelyek különböztek izoelektromos pontjukban és egyre csökkenő intenzitással a savas tartomány irányába sorakoztak egymás után. Ez multifoszforiláció jelenlétére utalt. Megfigyelhető volt, hogy míg a vad típusban a a legbázikusabb, addig a mutánsnál egy ennél savasabb forma a legabundánsabb, megerősítve az egydimenziós SDS-PAGE eredményeit. w^{1118} embrióval és adult állattal végezve ugyanezt a kísérletet kiderült, hogy míg az adultban található foszforilált formák száma megegyezik a bábban találhatókéval, addig az embrióban kettővel kevesebb helyen foszforilálódik az Rpt1. Tehát a foszforilációs mintázat egyedfejlődési állapotfüggő az Rpt1 esetében. Mivel a felfedezett poszttranszlációs módosítás tulajdonságai egyértelműen foszforilációra utaltak, burgonya savas foszfatázzal terveztük eltávolítani a foszforilációt az Rpt1-ről. E célból teljes embrionális fehérjeextraktumot burgonya savas foszfatázzal kezeltünk vagy nem kezeltünk 1 órán át 30 °C-on. A kezeletlen minta képe megegyezett a már megismert, embrióban jelenlevő Rpt1 formákkal, a kezelt mintában viszont egy kivételével majdnem teljesen eltűnt az összes Rpt1 forma. Ez arra utal, hogy az Rpt1 alegység valóban foszforilálódik.

Immunoblot analízist végeztünk w^{1118} és *Rpt1*^{P1} mutáns totál bábextraktumon több proteaszóma alegységre nézve. Az Rpt6 és Rpn9 alegységek alegységek relatív koncentrációja megnövekedett, míg az Rpn10/S5a/p54 relatív koncentrációja nem változott a mutáns esetében.

Az Rpt1 lecsökkent koncentrációja feltehetőleg zavart okoz az ATPáz gyűrű összeszerelődésében és így akár a 26S proteaszóma formációjában is. w^{1118} és *Rpt1*^{P1} mutáns bábokkal natív gélelektroforézist végeztünk és blottolás után a filtert különböző fedő, alap és 20S specifikus ellenanyagokkal reagáltattuk. A vad típusú minta esetén a jól ismert három sávot láttuk az immunoblotokon: két, egyszeresen (26S I) és kétszeresen (26S II) sapkázott 26S és egy sapka nélküli 20S formát. A szabad 20S mennyisége nem volt több a 26S formákénál, jelezve, hogy a katalitikus komplex döntő része beépül a 26S proteaszómába. A mutáns minták esetén egészen más képet kaptunk. Itt a jellemző dupla 26S sáv eltűnt, helyette a két sáv mobilitása közötti

mobilitású szétkenődött sáv látszott, amely reagált fedő, alap és 20S elleni ellenanyagokkal is. A szabad 20S mennyisége nagyon megemelkedett. Ez nagyfokú zavart jelez a 26S proteaszóma összeszerelődésében, amely feltehetőleg a lecsökkent Rpt1 koncentrációra vezethető vissza. A nagy feleslegben fennmaradó Rpt-en kívüli alegységek már csak megváltozott szerkezetű formákká állnak össze. A 20S proteaszóma ezek szerint Rpt1 nélkül is képes regulátor komplex alegységekkel komplexeket képezni, de az így keletkezett proteaszómáknak más mobilitása lesz, mint a 26S proteaszómáknak. Felfedezhető továbbá, hogy egy 20S komplexnek megfelelő mobilitású tömeg tűnik fel a mutánsban a fedő elleni ellenanyaggal végzett blotokon hosszabb expozíciókon, amely a részlegesen összeszerelt 19S komplexnek felelhet meg.

Immunoblot kísérletekben kimutattuk, hogy a multiubiquitinált fehérjék mennyisége, amelyet anti-ubiquitin ellenanyaggal detektálhattunk, megnő a $Rpt1^{P1}$ mutáns bábban a w^{1118} bábokhoz képest. Ez bizonyára a 26S proteaszóma funkciójának sérülésére utal, amely a lecsökkent Rpt1 koncentráció következménye.

A regulátor komplex alegységei, különösen az ATPáz gyűrű fehérjéi számos transzkripciót befolyásoló folyamatban vesznek részt a kromatinon a 20S komplex közreműködésével vagy anélkül. Minthogy az Rpt1 is egy ATPáz alegység és számos kísérlet utal arra, hogy transzkripciós szerepe is lehet, érdemesnek tartottuk megvizsgálni, hogy *Drosophilá*-ban immunofluoreszcens festéssel lokalizálható-e a kromatinhoz. Vándorló L3-as stádiumú w^{1118} és $Rpt1^{P1}$ mutáns lárvákból nyálmirigy óriáskromoszómát preparáltunk és anti-Rpt1 ellenanyaggal megfestettük. A vad típusú lárvákból nyert politén nyálmirigykromoszómán nagyon jól látszott a specifikusan sávokhoz asszociálódott Rpt1 fehérje elleni festés, amely további kísérletek során egyrészt preferenciálisan a transzkripciósan aktív területekhez, a puffokhoz, másrészt a puffon kívüli kromatinhoz tűnt kapcsolódni. A $Rpt1^{P1}$ mutáns kromoszómán ez a festés csak nagyon gyengén vagy egyáltalán nem látszott, jelezve azt, hogy a kevés jelenlévő Rpt1 fehérje már nem tud a transzkripciós folyamatokban részt venni. Az RNS polimeráz II legnagyobb alegységére is festve a kromoszómát feltűnt, hogy a polimeráz és az Rpt1 az esetek egy részében egy sávban fordul elő. Mindkettő festette egymástól független sávokban is a kromoszómát, de többször voltak megtalálhatók ugyanabban a sávban vagy puffban.

A Rad23 fehérje a proteaszóma egyik, mostanában jelentőssé vált szubsztrátszállító molekulája. A Rad23 két, alternatív splicing útján keletkezett izoformában van jelen *Drosophilá*-

ban, amelyeket Rad23A–nak és B-nek neveznek. A w^{1118} minta esetén csupán a Rad23A látszik az immunobloton, a B forma detektálhatatlan marad. A $Rpt1^{P1}$ mutáns minta esetében viszont mindkét formának megfelelő magasságban kapunk jelet. Tehát a Rad23B fehérje feldúsul a $Rpt1^{P1}$ mutánsban a vadhoz képest. Real-time PCR-rel kimutattuk, hogy a *Rad23B* érett mRNS mennyisége ugyanakkora a $Rpt1^{P1}$ mutánsban, mint a w^{1118} bábban. Tehát a $Rpt1^{P1}$ mutáció csak a Rad23B fehérje keletkezésének vagy lebontásának ütemét befolyásolhatja. Minthogy a Rad23 az ubiquitin-proteaszóma rendszer része és legalábbis az A forma kölcsönhat a proteaszómával, valószínűbbnek tűnik, hogy a vad típusú bábban a proteaszóma bontja a Rad23B-t és a $Rpt1^{P1}$ mutáció zavart okoz a Rad23B degradációjában.

IV. A $Rpt1^{P1}$ mutáns mitotikus jellemzői és genetikai interakciói

A rendelkezésre álló ellentmondó irodalmi adatok fényében kíváncsiak voltunk, mutat-e valamilyen mitotikus kromoszómaaberrációt a $Rpt1^{P1}$ mutánsok neuroblaszt preparátuma. Meglepetésünkre nem találtunk semmiféle megfigyelhető kromoszóma rendellenességet az agypreparátumokban, sem a mitotikus index növekedését, ami azt engedi sejtetni, hogy a $Rpt1^{P1}$ mutánsban nincsen blokk a mitózisban. A mitotikus blokk jellemzően a mitotikus ciklinek (ciklinA és B) felszaporodásával jár együtt, amely csökkent proteaszómális degradációjuknak tudható be. Western bloton kimutattuk, hogy a ciklinA mennyisége enyhén megnő, míg a ciklinB mennyisége nem változik a mutánsban a vad típushoz képest. A $Rpt1^{P1}$ mutáció tehát, ha okoz is sejtcikluszavart, azt a mitózis bekövetkezte előtt teszi.

A $Rpt1^{P1}$ mutáns hipomorf volta lehetővé tette, hogy genetikai interakciót keressünk közte és különböző proteaszóma és APC/C alegység mutációk között. Szinergisztikus genetikai interakciót sikerült kimutatnunk mind a $Rpt1^{P1}$ és *ΔRpn10/S5a/p54* mutánsok, mind a $Rpt1^{P1}$ és mks^{1} mutánsok között. A mks^{1} (*mákos*) az APC/C Cdc27 alegységének hipomorf mutációja, amely farát adult letális. A *ΔRpn10/S5a/p54* mutáció, amely a proteaszóma fő multiubiquitin receptorát távolítja el, bábletális. A mindkét mutációra homozigóta állatok a *Δp54* esetén L3 lárvaletálisok voltak, a mks^{1} esetén pedig fehér báb letálisok.

Összefoglalás

Eredményeinket összefoglalva megállapítatjuk, hogy:

1. Jellemeztük az *Rpt1* gén öt különböző allélját.
2. Felvetettük egy letális aminosavcsere létezésének lehetőségét az Rpt1 fehérje C-terminális régiójában.
3. Létrehoztunk egy új, hipomorf *Rpt1* mutációt.
4. A hipomorf mutáció segítségével felderítettük:
   - az Rpt1 fehérje foszforiláltságát
   - az Rpt1 szerepét a proteaszóma szerkezet kialakításában
   - az Rpt1 kapcsolódását a kromatinhoz
   - az Rpt1 szerepét más alegységek expressziójának szabályozásában
   - az Rpt1 hozzájárulását a Rad23B fehérje lebontásához
   - a mitotikus blokk hiányát és a multiubiquitinált fehérjék felszaporodását a hipomorf mutánsban
   - genetikai interakciókat a regulátor komplex alegységei és az APC/C egy alegysége között.

Közlemények

1. Kiss P, **Szabó Á**, Hunyadi-Gulyás É, Medzihradszky KF, Lipinszki Z, Pál M, Udvardy A (2005) *Zn^{2+}-induced reversible dissociation of subunit Rpn10/p54 of the Drosophila 26 S proteasome.* Biochemical Journal; 391(Pt 2):301-10. IF: 4,224

2. **Szabó Á**, Pál M, Deák P, Kiss P, Újfaludi Zs, Pankotai T, Lipinszki Z and Udvardy A (2007) *Molecular characterization of the Rpt1/p48B ATPase subunit of the Drosophila melanogaster 26S proteasome.* Molecular Genetics and Genomics (közlés alatt) IF:2,632

Társszerzői lemondó nyilatkozat

Alulírott igazolom, hogy a Jelölt téziseit ismerem, a tézisekben és a közleményekben foglalt tudományos eredményeket tudományos fokozat megszerzéséhez nem használtam fel és azokat ilyen célra a jövőben sem fogom felhasználni.

A Jelölt, mint társszerző a közlemény létrehozásához (Biochemical Journal (2005), 391(Pt 2):301-10) jelentős mértékben járult hozzá.

Szeged, 2007. március 10.

Dr. Udvardy Andor ……