

**DNS REPARÁCIÓ VIZSGÁLATOK EMLŐSSEJT TENYÉSZETEKEN
ÉS ALZHEIMER-KÓROS BETEGEK LIMFOCITÁIN**

Mórocz Mónika

Ph.D. értekezés tézisei

Témavezető: Dr. Raskó István

Az értekezés Szegedi Tudományegyetem **Molekuláris és sejtbiológia Ph.D.** programjának keretében készült, a MTA Szegedi Biológiai Központ Genetikai Intézetének Humán Molekuláris Genetikai csoportjában

2003

Szeged

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton hálásan köszönöm az eddigi munkámhoz és a dolgozat megírásához nyújtott segítséget:

szüleimnek, akik tanítottak és minden tanulmányi és szakmai döntésemben támogattak, gimnáziumi osztályfőnökömnek s egyben biológia tanárnőmnek **Dütsch Zsoltnénak**, aki erre a pályára irányított,

Dr. Cserpán Imrének, aki az egyetemi évek alatt témavezetőm volt és akitől a molekuláris biológia alapjait elsajátítottam és akihez azóta is minden problémával bátran fordulhatok,

Dr. Raskó Istvánnak, munkacsoportunk és intézetünk vezetőjének, aki ehhez a munkához a szellemi irányítást és az anyagi támogatást nyújtotta, valamint kutatói pályafutásomat lehetővé tette, amikor csoportjába fogadott egy majdnem pályamódosító kitérő után,

Prof. C. Stephen Downes-nak, hogy munkacsoportjában dolgozhattam az Észak Írország-i Coleraine-ban,

kollégáimnak **Csiszár Ágnesnak**, **Dr. Bachrati Csanádnak**, **Dr. Kalmár Tibornak**, **Czibula Ágnesnak**, **Sinkó Ildikónak**, **Szabó Erikának**, **Tömöry Gyöngyvérnek**, **Csányi Bernadettnek**, **Tóth Editnek**, **Dr. Kálmán Jánosnak**, **Juhász Annának**, **Dr. Jayne Devlinnek**, **Dr. Angela P McGlynn-nek**, **Dr. Gillian R. Wasson-nak** a jó munkahelyi légkört és a számos szakmai és egyéb segítséget,

Lehócz Istvánné és **Radóné Dudás Mária** asszisztenseknek áldozatos és precíz munkáját férjemnek, **Ungi Sándornak**, kisfiamnak, **Kristófnak** és **férjem családjának**, hogy a munkámmal járó nehézségeket, a külföldi távolléteket elviselték és minden nehéz helyzetben mellettem álltak és támogattak.

BEVEZETŐ

Az emlős sejtek nagyméretű genomja számos külső és belső DNS károsító ágens hatásának van kitéve. Az emlős genomban a kijavítatlan maradó DNS károsodások a replikáció során mutációkat indukálnak. Ezek a mutációk a sejtek túlélési esélyeit befolyásolhatják, illetve ha a sejtek növekedésének szabályozását irányító génekben keletkeznek, daganatos elváltozások kialakulását indíthatják el. Ezen hatások kivédésére a sejtek különböző DNS reparációs rendszereket fejlesztettek ki. Ezek közül a nukleotid excíziós reparációs rendszer (NER) az egyik leghatékonyabb védelmi rendszer, amely sokféle, strukturálisan különböző, a kettős hélix torzulását okozó károsodás eltávolítására képes. Ezeknek a károsodásoknak a javítása egy többlépéses reakciófolyamatban valósul meg, amely a károsodás felismeréséből, behatárolásából, kétoldali (5' és 3' irányú) asszimmetrikus kihalásából, a mintegy 30 nukleotid kivágásából, újraszintetizálásából majd a régi és új szál egyesítéséből áll (de Laat 1999).

Két NER alrendszer különíthető el, a transzkripcióval kapcsolt reparáció (TCR), amely a transzkripcionálisan aktív szakaszok átíródo szálát javítja és a globál genom reparációs rendszer (GGR), amely az inaktív genomi régiók reparációját végzi.

Annak ellenére, hogy a NER fehérjék összehangolt működését *in vitro* rendszerben reprodukálni tudták UV fényvel besugárzott plazmid DNS-en tisztított fehérjék felhasználásával (Aboussekhra 1995), keveset tudunk arról, hogyan működik a NER az élő sejtben, a kromatinba ágyazott DNS-en. A heterokromatikus (különösen a pericentrikus, centromerikus, telomerikus) szakaszokon végbemenő javítási folyamatok alig ismertek, bár valószínűleg közvetlen összefüggés van a kromatin szerkezet, a DNS reparáció és a kromoszóma törések között (Surralles 1998).

Az UV okozta DNS károsodások reparációja heterogén folyamat. A CPD-k keletkezése és reparációja nagyon eltérő a humán genom egyes régiói között és eltérő lehet a reparáció sebessége akár szomszédos szekvenciákon is. Az UV fototermékek gyorsabban javítódnak a transzkripcionálisan aktív DNS-en, mint a genom egyéb szakaszain, ezen belül is az aktív gének átíródo szálai élveznek előnyt az inaktív szállal szemben (Bohr 1987; Gao 1994; Hanawalt 1991; Mellon 1987; Tommasi 2000; Tornaletti 1994). Mindazonáltal az egyes emberi sejt vonalak és sejt típusok reparációbeli eltéréseiről igen keveset tudunk.

A normál sejt működés számos termékéről igazolták, illetve feltételezik, hogy DNS károsító hatással rendelkeznek. A károsodott bázisok gyakran spontán keletkeznek vagy oxidáció, alkilálás illetőleg hibás bázispárosodás eredményei, melyek többségét a bázis excíziós reparációs rendszer (BER) javítja (bár néhány bázis károsodás javítására a NER is

képes), ezért a BER-t gyakran a belső eredetű károsodások védelmi rendszerének tekintik (Memisoglu 2000). A makromolekulák (lipidek, fehérjék, RNS és DNS) szabadgyökök hatására bekövetkező oxidációja gyakran okoz patológiás elváltozásokat és betegségeket. Az oxidáló hatású szabadgyökök és a védelmi mechanizmusok (enzimatis és nem enzimatis antioxidánsok, reparációs rendszerek) egyensúlyának felborulása oxidatív stresszt eredményez, amely bizonyos életfolyamatok megzavarása következtében kóros elváltozásokhoz vezet.

Egyik alapvető különbség a NER és a BER között, hogy míg a NER néhány fehérje felhasználásával képes számos kémiai és szerkezeti elváltozást felismerni, addig a BER specifikus, korlátozott számú károsodás felismerésre képes fehérjét alkalmaz. A BER első lépésében a károsodott bázist egy specifikus DNS-glikoziláz károsítja. Ezután az abázikus helyre egy apurin/apirimidin (AP) endonukleáz ismeri fel, amely 5' irányban elhasítja a foszfodiészter kötést és egy 5' abázikus véggel rendelkező száltörést hagy maga után. Az abázikus helyre a megfelelő nukleotidot a DNS polimeráz β (bizonyos helyzetekben a FEN1 endonukleáz) illeszti be endonukleáz és polimeráz aktivitása által, majd a szál ligálása következik.

E két reparációs rendszer (BER és a NER) fontos szerepet játszik a magasabbrendű eukarióták sejtjeiben a citotoxikus, mutagén és karcinogén hatások kivédésében.

CÉLKITŰZÉSEK

I. Miután a csoportunkban eddig elvégzett DNS reparációs kísérletekben elsősorban a sok sejtet/DNS-t igénylő és ezért drága és bonyolult régi technikák alkalmazásával a reparáció más aspektusait vizsgáltuk, célul tűztük ki:

- olyan kvantitatív PCR alapú módszer kidolgozását, mellyel emberi sejtet heterokromatikus régióinak reparációs kinetikája vizsgálható,
- a kidolgozott PCR módszer alkalmazásával emberi valamint humán/rágcsáló hibrid sejt vonalak reparációs kinetikájának vizsgálatát.

II. Az oxidatív károsodások jelentőségét az Alzheimer-kór patomechanizmusában számos közlemény igazolja (Christen 2000; Markesbery 1999; Smith 2000). Az idegsejtetben DNS és RNS oxidáció kialakulását is kimutatták. Az elmúlt években néhány közlemény alátámasztja, hogy az oxidatív stressz által okozott elváltozások nemcsak az agyban, hanem a perifériás szervekben is kimutathatók (Matsushima 1995; Mecocci 1998; Parker, Jr. 1995). Ezek alapján vizsgálatainkhoz az ilyen típusú analízishez eddig mások által még nem használt alkalikus Comet-assay-t alkalmazva, élő, Alzheimer-kóros betegekben és életkorban hozzájuk

illesztett egészséges idős emberekben az oxidatív DNS károsodások szintjének vizsgálatát kívántuk elvégezni:

- a perifériás vérből izolált limfocitákon kezelés nélkül,

a perifériás vérből izolált limfocitákon *in vitro* alkalmazott oxidatív stresszt követő rövid reparációs idő elteltével.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

I. Sejttenyésztés: 12 humán (diploid humán fibroblaszt, RVH421, R13, A375, TPC1, HT1080, EJ30, 3 különböző Xeroderma pigmentosum (két XPA és egy XPC), HeLa) és két rágszáló/humán hibrid (15A (kínai hörcsög/humán) és A9+15 egér/humán) sejtvonalat vizsgáltunk.

Kvantitatív PCR módszer (a módszer kidolgozását lásd Eredmények és következtetések c. fejezet)

Denaturáló poliakrilamid gélelektroforézis

Autoradiográfia és kvantitatív analízis PhosphorImager Analyser-rel

Hidroxiapatit kromatográfia

UV túlélési teszt

Reparációs DNS szintézis gátlás

II. Humán limfocita szeparálás Histopaque 1077 gradiensen

Alkalikus Comet assay oxidatív károsodásokra specifikus endonukleázok (Fpg és Endo III) alkalmazásával

Fluorescens mikroszkópos vizsgálat

Kvantitatív Comet analízis Komet4 szoftver (Kinetic Imaging Inc, UK) alkalmazásával

Statisztikai analízis

EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

Disszertációm két DNS reparációs útvonal, A NER és a BER által javított DNS károsodások indukcióját és eltávolítását vizsgálja.

I. Az emberi sejtekben végbemenő UV fototermék-reparáció vizsgálatára egy A+T gazdag részletet tartalmazó pericentromerikus régiót célszekvenciaként alkalmazó kvantitatív PCR reakciót dolgozunk ki. A módszer az UV károsodások azon tulajdonságán alapul, hogy azok száltorziós hatásuk révén gátolják a Taq polimeráz által végrehajtott replikációt (Kalinowski 1992; Murray 1992; Ponti 1991). A célszekvenciául választott chAB4 ismétlődő elemet eredetileg egy angiofibroma sejtvonallal polidiszperz DNS frakciójában fedezték fel. Ez egy alacsony kópiaszámú repetitív szekvencia család, amely kb. 50 kópiában található meg az emberi genomban, (szétszórtan a különböző kromoszómák pericentrikus heterokromatinjában) és evolúciós szempontból igen instabillnak tekinthető (Assum 1989; Assum 1991). A chAB4 elem igen érzékeny célszekvencia az UV fény DNS károsító hatásának vizsgálatára, mivel nagyszámú, dimer képződésére alkalmas szomszédos pirimidin alkotja.

1. Kísérleteink során kidolgoztuk a chAB4 szekvencia kvantitatív amplifikációjának pontos körülményeit, melyek lehetővé teszik a fototermékek kimutatását nanogramnyi genomiális DNS-ből, fiziológias UV dózisok alkalmazása mellett. Az optimális QPCR körülményeket alkalmazva (melyek lehetővé teszik, hogy az amplifikáció exponenciális fázisban maradjon) 11 emberi és két humán/rágcsáló hibrid sejtvonal reparációs kinetikáját vizsgáltuk.
2. A QPCR módszerrel hatékony reparációt detektáltunk (100% reparáció 12 ill. 24 óra alatt) a diploid humán fibroblaszt, a HT1080, az A375, az A9+15 és a TPC1 sejtvonalakban, ami meglepő jelenség az emberi heterokromatinban és meglehetősen váratlan jelenség az egér/humán hibrid (A9+15) sejtekben.
3. Váratlan, UV indukált száltörés akkumulációt detektáltunk QPCR-rel a látszólag már reparált DNS-ben 12 órával az UV kezelés után a 15A kínai (hőrcsög/humán hibrid) sejtvonalban. A száltörések mennyiségének emelkedését Comet assay-vel is megerősítettük, a jelenség magyarázata azonban további vizsgálatokat igényel.
4. A pericentromerikus heterokromatinban az UV károsodások eltávolításának defektusát ill. hiányát mutattuk ki néhány tumoros sejtvonalban (R13, RVH421, HeLa, EJ30) és a NER szindrómás Xeroderma pigmentosum nevű betegségben szenvedő személyekből izolált (XPA és XPC) sejtvonalakban.
5. Kísérleteink azt is igazolták, hogy a kromatinszerkezet fellazítása nátrium-butirát kezeléssel nem befolyásolta a heterokromatin reparációs kinetikáját, viszont a teljes genom reparációját meggyorsította. Ez a vizsgálat azt igazolja, hogy a pericentrikus heterokromatin reparációjában (főként a károsodások hozzáférhetőségének elősegítésében) eddig még nem azonosított faktorok is fontos szerepet játszhatnak.
6. A nagyszámú pirimidin dimer képződése a viszonylag rövid (~2 kb)-os chAB4 szekvencia részleten jelentős torzulást válthat ki a DNS gerincben, amely a régió kromatin szerkezetének megzavarásához és strukturális instabilitáshoz vezethet. Ez összhangban van azzal, hogy a heterokromatikus régió forró pontként szerepel számos duplikációs, mikrodeléciós és mikroduplikációs szindrómában (Amos-Landgraf 1999; Chen 1997; Horvath 2001; Padilla-Nash 2001; Reiter 1997; Shaikh 2001). A pericentrikus károsodások javítása védelmi mechanizmusként fontos a potenciálisan onkogén genomi átrendeződések megelőzésében, illetve a reparációs hibák az instabil pericentrikus heterokromatinban elősegíthetik tumoros elváltozások kialakulását.
7. A sejtvonalak közötti reparáció képességbeli eltérések azt igazolják, hogy a chAB4 pericentromerikus repetitív szekvencia reparációja számos faktortól függhet, hiszen a GGR-ben a károsodások felismerése többlépcsős és összetett folyamat, aminek

működését, eltéréseit a jelenlegi ismereteink alapján nem tudjuk megmagyarázni. Az alkalmazott QPCR technika azonban alkalmas módszer a reparációs folyamatok nyomonkövetésére és jellemzésére a vizsgált sejtekben. A QPCR technikával lehetőség nyílik a heterokromatikus reparációt befolyásoló faktorok vizsgálatára és különböző sejtípusok esetén kapott adatok összegzésével jobban megérthetjük ezeket a komplex folyamatokat.

8. Az Alzheimer kóros betegekben a DNS oxidáció markereinek vizsgálatára az oxidatív DNS károsodásokra specifikus endonukleázokkal kiegészített alkalikus Comet assay-t használtuk (az Fpg az oxidált purinokat, az EndoIII az oxidált pirimidineket ismeri fel). A módszer pontos és reprodukálható körülményeket biztosít az oxidatív bázismódosulások vizsgálatára kísérleti oxidatív melléktermékek képzése nélkül.
9. A Comet assay-vel szignifikáns emelkedést detektáltunk az oxidált purinbázisok mennyiségében az Alzheimer-kóros betegek perifériás limfocitáiban. Ez az eredmény jó összhangban van Mecocci és mtsai eredményeivel, akik HPLC-vel szignifikánsan magasabb 8OHdG szintet detektáltak AD limfocitákban (Mecocci 1998).
10. Vizsgálatainkban az egyesszálú törések és az oxidált pirimidinek mennyisége enyhén, de nem szignifikánsan magasabb volt Alzheimer-kórosokban, mint az összehasonlításához használt, korban illesztett egészséges idős személyekben.
11. Összehasonlítottuk a kontrollok és az Alzheimer-kórosok limfocitáinak reparációs képességét. Az egy órás reparációs idő után detektált, javítatlanul maradó egyes szálú törések és lúg labilis helyek mennyisége (amelyet száltörésekként detektáltunk és a Comet farok DNS-ként mértünk) nem különbözött szignifikánsan a két csoport között, hasonló reparációs aktivitást tükrözve. A reparáció után megmaradó egyesszálú törések+Fpg felismerő helyek mennyisége szignifikánsan magasabb volt az AD-sokban, mint a kontrollokban. A reparáció előtti és utáni Fpg helyek összehasonlítása alapján az oxidált purinok reparációja kissé hatékonyabb volt a kontrollokban, mint az Alzheimer-kórosokban.
12. Az oxidált pirimidinek eltávolítása (az Endonukleáz III felismerő helyek csökkenése) hatékonyabb volt, mint a purinoké, sőt az Alzheimer-kórosokban szignifikáns csökkenést detektáltunk a reparáció során, ami hatékony oxidált pirimidin reparációt jelez.
13. Ezek az eredmények az oxidált purinok és pirimidinek reparációs kinetikájának eltérését mutatják. Míg az egyesszálú törések és az oxidált pirimidinek reparációja között nincs szignifikáns különbség a kontroll csoport és az AD-sok között, (vagyis a valószínűleg a BER ezen károsodások reparációjáért felelős enzimeit megfelelően

működnek a két csoportban), addig az oxidált purinok vizsgálata révén kapott eredmények azt tükrözik, hogy az AD limfocitákban nem megfelelően megy végbe ezek javítása.

Az AD limfociták minden bizonnyal oxidatív stressznek vannak kitéve, aminek hatását purin reparációs zavarok súlyosbíthatják. Ezt támasztja alá, hogy (Lovell 2000) szignifikáns 8-oxoguanin glikoziláz (a 8OHdG kihalásáért felelős BER enzim) és megnövekedett DNS helikáz aktivitást detektáltak Alzheimer-kórosok agyából izolált sejtmagi fehérje mintákban. Jaruga (1996) és Dizdaroglu (1996) vizsgálatai szerint a purinok az oxidatív stresszel szemben legfogékonyabb bázisok és emberi limfoblasztoid sejt kultúrákban reparáció defektusuk a 8OHdG felhalmozódásához vezet. Gabbita (1998) az agyi oxidatív stressz szempontjából szintén a guanint találták legsérülékenyebb bázisnak, ami az Alzheimer-kóros agy funkcionális elváltozásaihoz vezethet.

Összegzésül megállapíthatjuk, hogy vizsgálataink szerint az Alzheimer-kór a perifériás limfocitákban emelkedett szintű oxidatív DNS (főként purin) károsodással párosul, ezenkívül defektus figyelhető meg az oxidált purinok reparációjában. Megállapíthatjuk, hogy a Comet assay az oxidatív DNS károsodásokra specifikus endonukleázok használatával egy egyszerű, pontos módszernek bizonyult az Alzheimer-kórban indukálódó szabadgyökök DNS károsító hatásának tanulmányozására. Alkalmazásával igazoltuk, hogy az oxidatív stressz nemcsak az idegrendszerben, hanem a perifériás szervekben is kialakul.

IRODALOMJEGYZÉK

1. Aboussekhra A, Biggerstaff M, Shivji MK, Vilpo JA, Moncollin V, et al. (1995). *Cell* 80 (6):859-868.
2. Amos-Landgraf JM, Ji Y, Gottlieb W, Depinet T, Wandstrat AE, et al. (1999). *Am.J.Hum.Genet.* 65 (2):370-386.
3. Assum G, Bockle B, Fink T, Dmochewitz U, and Krone W (1989) *Hum.Genet.* 82 (3):249-254.
4. Assum G, Fink T, Klett C, Lengel B, Schanbacher M, Uhl S, and Woehr G (1991). *Genomics* 11 (2):397-409.
5. Assum G, Gartmann C, Schempp W, and Woehr G (1994). *Genomics* 21 (1):34-41.
6. Assum G, Pasantos J, Glaser B, Schempp W, and Woehr G (1998). *Mamm.Genome* 9 (1):58-63.
7. Bohr VA, Phillips DH, and Hanawalt PC (1987). *Cancer Res.* 47 (24 Pt 1):6426-6436.
8. Chen KS, Manian P, Koeuth T, Potocki L, Zhao Q, Chinault AC, Lee CC, and Lupski JR (1997). *Nat.Genet.* 17 (2):154-163.
9. Christen Y (2000) *Am.J.Clin.Nutr.* 71 (2):621S-629S.
10. de Laat WL, Jaspers NG, and Hoeijmakers JH (1999) *Genes Dev.* 13 (7):768-785.
11. Gabbita SP, Lovell MA, and Markesbery WR (1998) *J.Neurochem.* 71 (5):2034-2040.
12. Gao S, Drouin R, and Holmquist GP (1994) *Science* 263 (5152):1438-1440.
13. Hanawalt PC (1991) *Mutat.Res.* 247 (2):203-211.
14. Horvath JE, Bailey JA, Locke DP, and Eichler EE (2001) *Hum.Mol.Genet.* 10 (20):2215-2223.
15. Jaruga P and Dizdaroglu M (1996). *Nucleic Acids Res.* 24 (8):1389-1394.
16. Kalinowski DP, Illenye S, and Van Houten B (1992) *Nucleic Acids Res.* 20 (13):3485-3494.

17. Lovell MA, Xie C, and Markesbery WR (2000) *Brain Res.* 855 (1):116-123.
18. Markesbery WR (1997) *Free Radic.Biol.Med.* 23 (1):134-147.
19. Markesbery WR and Carney JM (1999) *Brain Pathol.* 9 (1):133-146.
20. Matsushima H, Shimohama S, Fujimoto S, Takenawa T, and Kimura J (1995). *Alzheimer Dis.Assoc.Disord.* 9 (4):213-217.
21. Mecocci P, MacGarvey U, and Beal MF (1994) *Ann.Neurol.* 36 (5):747-751.
22. Mecocci P, Polidori MC, Ingegneri T, Cherubini A, Chionne F, Cecchetti R, and Senin U (1998) *Neurology* 51 (4):1014-1017.
23. Mellon I, Spivak G, and Hanawalt PC (1987) *Cell* 51 (2):241-249.
24. Memisoglu A and Samson L (2000) *Mutat.Res.* 451 (1-2):39-51.
25. Murray V, Motyka H, England PR, Wickham G, Lee HH, et al. (1992) *J.Biol.Chem.* 267 (26):18805-18809.
26. Padilla-Nash HM, Heselmeyer-Haddad K, Wangsa D, et al. (2001) *Genes Chromosomes.Cancer* 30(4):349-363.
27. Parker WD, Jr. and Parks JK (1995) *Neurology* 45 (3 Pt 1):482-486.
28. Ponti M, Forrow SM, Souhami RL, D'Incalci M, and Hartley JA (1991) *Nucleic Acids Res.* 19 (11):2929-2933.
29. Reiter LT, Murakami T, Koeth T, Gibbs RA, and Lupski JR (1997) *Hum.Mol.Genet.* 6 (9):1595-1603.
30. Shaikh TH, Kurahashi H, and Emanuel BS (2001) *Genet.Med.* 3 (1):6-13.
31. Smith MA, Rottkamp CA, Nunomura A, Raina AK, and Perry G (2000) *Biochim.Biophys.Acta* 1502 (1):139-144.
32. Surrallés J, Puerto S, Ramirez MJ, Creus A, Marcos R, Mullenders LH, and Natarajan AT (1998) *Mutat.Res.* 404 (1-2):39-44.
33. Tommasi S, Oxyzoglou AB, and Pfeifer GP (2000) *Nucleic Acids Res.* 28 (20):3991-3998.
34. Tornaletti S and Pfeifer GP (1994) *Science* 263 (5152):1436-1438.

KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

Az értekezés témakörébe tartozó közlemények

1. **Mónika Mórocz**, János Kálmán, Anna Juhász, Ildikó Sinkó, Stephen Downes, Zoltán Janka, István Raskó; Elevated Levels of Oxidative DNA Damage in Lymphocytes from Alzheimer's Patients; *Neurobiol Aging.* **2002 Jan-Feb;23(1):47-53. (IF₂₀₀₀:4.15)**
2. **Mónika Mórocz**, Ágnes Csiszár, Robert T. Johnson, C. Stephen Downes, Imre Cserpán, István Raskó; Variation in sequence-specific repair of UV damage in human pericentromeric heterochromatin of different cell lines, *Cancer Letter.s* **2003 közlésre elfogadva (IF₂₀₀₀:1.51)**
3. **Mórocz Mónika**, Kálmán János, Juhász Anna, Sinkó Ildikó, Stephen Downes, Janka Zoltán, Raskó István; Emelkedett szintű sejtmagi oxidatív DNS károsodás kimutatása Alzheimer kóros betegek limfocitáiban Comet assay alkalmazásával; *Clinical Neuroscience* **2000. 53(1) 26-27.(poszter absztrakt)**

Egyéb közlemények

4. Cserpan I, Katona R, Praznovszky T, Novak E, Rozsavolgyi M, Csonka E, **Morocz M**, Fodor K, Hadlaczky G. The chAB4 and NF1-related long-range multisequence DNA families are contiguous in the centromeric heterochromatin of several human chromosomes. *Nucleic Acids Res.* 2002 Jul 1;30(13):2899-905. (IF₂₀₀₁:6.37)

5. I. Sinkó, **M. Mórocz**, J. Zádori, M. Krizsán, K. Kokavszky, I. Raskó (2000): Comet Assay for Testing Reproductive Toxicity; *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, Vol. 17, Number 8, 2000. (*Abstract from the Second World Congress of APART*)

Előadások:

1. Csiszár Ágnes, **Mórocz Mónika**, Kalmár Tibor, Robert T. Johnson, Raskó István; UV sugárzás okozta DNS károsodások reparációjának vizsgálata emlőssejteken; **Magyar Genetikai Kongresszus, Siófok, (1999. ápr. 11-14).**

2. A. Csiszar., **M. Morocz**, T. Kalmar, R.T Johnson, I. Rasko; Repair capacity of UV lesions in human melanoma cell lines; **Victor Rotschild Memorial Symposia, Hebrew University, Jerusalem, Israel, (02-07. May, 1999).**

3. M. Morocz, A. Csiszar, T. Kalmar, I. Cserpan, I. Rasko; A multiplex, low copy number repetitive sequence based quantitative PCR Method to detect UV photoproduct; **Victor Rotschild Memorial Symposia, Hebrew University, Jerusalem, Israel, (02-07. May, 1999).**

4. **Mónika Mórocz**, János Kálmán, Anna Juhász, Ildikó Sinkó, Stephen Downes, Zoltán Janka, István Raskó; Elevated Levels of Oxidative DNA Damage in Lymphocytes from Alzheimer's Patients Detected by Comet Assay; **DNA Repair Meeting, Smolenice, Slovakia (9-12. Okt, 2000).**

5. Mórocz Mónika, Kálmán János, Juhász Anna, Sinkó Ildikó, Stephen Downes, Janka Zoltán, Raskó István; A Comet assay és alkalmazása humángenetikai vizsgálatokra; **Straub Napok MTA Szegedi Biológiai Központ, (Szeged, 2000. nov. 30).**

6. Mórocz Mónika, Kálmán János, Juhász Anna, Sinkó Ildikó, Angela P. McGlynn, Stephen Downes, Janka Zoltán, Raskó István; A Comet Assay és alkalmazása molekuláris diagnosztikai vizsgálatokra; **Magyar Biokémiai Egyesület VI. Konferenciája, Sárospatak. (2001. máj. 17-19).**

7. Mórocz Mónika, Kálmán János, Juhász Anna, Sinkó Ildikó, Janka Zoltán, Stephen Downes, Raskó István; Emelkedett szintű oxidatív DNS károsodás kimutatása Alzheimer-

kóros betegek lymphocitáiban Comet assay alkalmazásával; **Magyar Humán-genetikusok Országos Konferenciája, (Debrecen, 2001. Jún. 8-9).**

8. Czirbula Ágnes, Mórocz Mónika, Bachrati Csanád, Szappanos László, Morava Éva, Raskó István; A scoliosis pathogenezisében résztvevő gén jellemzése; **MTA Akadémiai napok, MTA SZAB Székház, (Szeged, 2001. november 27).**

9. Mórocz Mónika, Csiszár Ágnes, Robert T. Johnson, Stephen C. Downes, Cserpán Imre, Raskó István, Szekvenciaspecifikus DNS reparáció vizsgálat a humán pericentrikus heterokromatinban, **Magyar Humán-genetikai Társaság 2002. évi. Nagygyűlése (Budapest 2002. nov. 22-23).**

Poszterek

1. Cserpán I, Praznovszky T, Fátyol K, Rózsavölgyi M, Novák E, Peterffy M, **Mórocz M**, Hadlaczky Gy. Boundary Regions of Pericentromeric Satellite Sequences; **3th Conference of Hungarian Genetical Society, Debrecen, p51.,(8-12. Dec. 1994).**

2. Mórocz M, Czirbula A, Bachrati Cs, Raskó I, Rapid, Simple Method for Study Gene Specific Repair in Cell Culture; **3th Conference of Hungarian Genetical Society Debrecen, p105. (8-12. Dec, 1994).**

3. Csiszár Ágnes, Mórocz Mónika, Kalmár Tibor, Cserpán Imre, Robert T. Johnson, Raskó István; DNS reparáció molekuláris vizsgálata humán sejteken; **Magyar Biokémiai Egyesület Molekuláris Biológiai Szakosztálya 5. Munkaértekezlete Sopron, (2000. máj. 8-11).**

4. A. Csiszar., M. Morocz.,T. Kalmar, R.T Johnson, I. Rasko; Repair capacity of UV lesions in human melanoma cell lines; **Victor Rotschild memorial Symposia, Hebrew University, Jerusalem, Israel, (02-07. May, 1999).**

5. M. Morocz, A. Csiszar, T. Kalmar, I.Cserpan, I. Rasko; A multiplex, low copy number repetitive sequence based quantitative PCR Method to detect UV photoproduct; **Victor Rotschild memorial Symposia, Hebrew University, Jerusalem, Israel, (02-07. May, 1999).**

6. M. Morocz, A. Csiszar, T. Kalmar, C.Z. Bachrati. I.Cserpan, R.T. Johnson, I. Rasko; Detection of UV photoproduct repair of euchromatic and heterochromatic genome sequences in human cultured cell lines; **30th Annual Meeting of European Environmental Mutagen Society, Budapest, (2000. aug. 22-26).**

7. I Sinkó, M. Mórocz, J. Zádori, M. Krizsán, K. Kokavszky, I. Raskó; Comet Assay for Testing Reproductive Toxicity; **Second World Congress of APART. Budapest (14-17 Sept. 2000).**

8. Mórocz Mónika, Kálmán János, Juhász Anna, Sinkó Ildikó Stephen Downes, Janka Zoltán, Raskó István; Emelkedett szintű sejtmagi oxidatív DNS károsodás kimutatása Alzheimer kóros betegek limfocitáiban Comet assay alkalmazásával; **5.th Conference of Alzheimer's Disease and Related Disorders. Pécs, (2000. okt. 26-28)** (*A Magyar Alzheimer-kór társaság díját elnyert poszter*)