Kismolsúlyú hősokkfehérjék membrán kölcsönhatásai

A Ph.D. értekezés tézisei

Balogi Zsolt

Témavezetők:

Horváth Ibolya, Ph.D.

Török Zsolt, Ph.D.

Magyar Tudományos Akadémia,

Szegedi Biológiai Központ,

Biokémiai Intézet

2006.

BEVEZETÉS

Minden élőlény szoros kölcsönhatásban van a környezetével. A környezeti tényezők komoly kihívást jelenthetnek az egyed számára, amely speciális válaszreakciókkal -stresszválaszokkal- igyekszik a káros hatásokat kompenzálni. Károsodások érhetik a sejt minden alkotóelemét, mint pl. a DNS-t, a fehérjéket vagy a membránalkotó lipideket. A membránok őrzik a sejt integritását, jelentősen hozzájárulnak a sejt fölépítés- és működésbeli szerveződéséhez, ill. aktív szerephez jutnak a jelátviteli folyamatokban. Ugyanakkor mind sejten belüli elhelyezkedésük, szerkezetük, mind kémiai összetételük alapján a különféle stresszhatások potenciális célpontjául is szolgálhatnak. A membrán, valamint a membrán és stresszfolyamatok kapcsolatának tanulmányozása arra a fölismerésre vezetett, hogy **a hősokkfehérjék membránokhoz (lipidekhez) kötődve megőrizhetik azok integritását és funkcionalitását**. Ezen túlmenően **kapcsolat áll fent a hősokkgének szabályozása és a membrán fizikai állapota között**. A membrán nem csupán passzív résztvevőként szenvedi el a stressz körülmények károsító hatásait, hanem aktív jeladóként érzékelve a megváltozott környezeti paramétereket, maga is beindíthatja a stresszválasz folyamatait (hősokkfehérjék expressziója, lipidváltozások), amelyek „enyhülést" hozhatnak nem csak a membrán, de az egész sejt számára. A hősokkfehérjék népes táborának egy általánosan jelenlevő családját alkotják **a kismolsúlyú hősokkfehérjék (sHsp-k)**, melyek **a citoszolikus fehérjék átmenekítése mellett hatékony védelmet nyújthatnak a membránok számára is.**

E dolgozat témája a sHsp-k membrán -azon belül is elsősorban membrán lipidekkel történő- kölcsönhatásának tanulmányozása, membránkötésük jelentőségének és mechanizmusának megértése. Ennek érdekében prokarióta modellrendszereket vizsgáltunk:

a/ egy fotoszintetizáló cianobaktériumot, a ***Synechocystis* PCC 6803**-t, amely (i) kiváló eszközként szolgál a növényi szervezetek modellezésére, (ii) csak egyetlen sHsp-vel bír, (iii) amelynek a fotoszintetikus membránra gyakorolt hatása egyszerűen nyomon követhető a tilakoid membrán funkció tesztelésével;

b/ az ***Escherichia coli***-t, hogy fölfedjük, (i) vajon az *E. coli* sHsp-k -a *Synechocystis* Hsp17-hez hasonlóan- rendelkeznek-e a membránt védeni képes funkcióval, és ha igen, (ii) mi a jelentősége a két sHsp együttes jelenlétének.

A DOLGOZAT ELŐZMÉNYEI ÉS A CÉLKITŰZÉSEK

I. A *Synechocystis* PCC 6803 egyetlen sHsp-je a **Hsp17**, melyről a közelmúltban számos publikáció jelent meg. Többek között ismeretes, hogy hőstressz során kölcsönhat és ún. „refolding-ra alkalmas állapotban" konzervál bizonyos fehérjéket (Giese és Vierling, 2002 és 2004). Ugyanakkor **tilakoid membránokhoz (is) kötődve**, ezáltal növelve azok stabilitását, közvetlen vagy közvetett módon **jelentős mértékben óvja a fotoszintetikus funkciót a hő és a fény okozta károsodásoktól** (Török és mtsai, 2001; Asadulghani és mtsai, 2003; Nitta és mtsai, 2005). Egy, a membrán lipid fázisát szelektíven módosító kísérlet arra utal, hogy **a Hsp17 expressziója és membrán asszociációja közvetlen és kölcsönös kapcsolatban áll a tilakoid membrán lipidjeinek fizikai állapotával, annak fluiditás jellemzőjével** (Horváth és mtsai, 1998).

1/a Annak érdekében, hogy a Hsp17-membrán kölcsönhatás hőakklimatizációban betöltött szerepét alapjaiban megérthessük, kísérleteket terveztünk annak földerítésére, hogy **milyen tényezők és folyamatok játszanak szerepet a tilakoid membrán megnövekedett stabilitásának**, és ezzel összefüggésben, **a fotoszintetikus funkció termorezisztenciájának kialakulásában.**

Célul tűztük ki, hogy

− megvizsgáljuk a fény- és hőedzés szerepét a termotolerancia kialakulásában (sötétben és fényben hőakklimatizált sejtek fotoszintetikus aktivitásának mérésével *in vivo*),

− föltérképezzük az akklimatizált membránok összetételében, fizikai jellemzőiben, szerkezetében és fölépítésében történt változásokat,

− jellemezzük a membránok lipid fázisában történt változásokat, és

− analizáljuk a potenciális stabilizáló tényezők lehetséges hatásmechanizmusát, és az esetleges specifikus/ szelektív sHsp-lipid kölcsönhatások lehetőségét.

1/b A Hsp17-lipid kölcsönhatás természetének alaposabb **jellemzés**ére részletes ***in vitro*** kísérletekbe kezdtünk.

A kölcsönható lipid komponens változtatásával kívántuk vizsgálni a sHsp lipid kölcsönhatásának mechanizmusát a lipid fejcsoport és a hidrofób zsírsav régiókban.

2. A sHsp oligomerizációs szerkezetének és/ vagy potenciális kölcsönható régióinak módosításával a Hsp17-tilakoid membrán (lipid) kölcsönhatás mechanizmusának további tanulmányozását céloztuk meg mind *in vivo*, mind *in vitro* körülmények között. Egyidejűleg arra is választ kerestünk, hogy **a sHsp-lipid kölcsönhatás mechanizmusának ismeretében lehet-e azt irányítottan befolyásolni.** Kooperációs partnerünk (E. Vierling, Tucson, AZ, USA) munkacsoportja a Hsp17 olyan pontmutánsait állította elő és tesztelte *in vitro* és *in vivo* körülmények között, amelyek oligomerizációs hajlamukban és fehérjevédő képességükben különböznek a vad típustól, ill. a különféle pontmutánsokat expresszáló sejtek különböző mértékben tolerálják a stresszhatást (Giese és Vierling, 2002 és 2004; Giese és mtsai, 2005). A vad típusú mellett hat pontmutánst expresszáló sejtet ill. *E. coli*-ból tisztított fehérjét vizsgáltunk (S2Y, L9P, Q16R, L66A, F102S, V143A), amelyek mind a fentebb fölsorolt tulajdonságok tekintetében, mind a sHsp mutáció helyét illetően széles határok közötti vizsgálódáshoz nyújtottak lehetőséget.

II. Az *Escherichia coli* két sHsp-je az **IbpA és** az **IbpB**. Ezek a sHsp-k extrém magas hőmérsékleten gátolják a proteinek denaturációját *in vivo*. Szignifikáns mértékű fehérjevédelmet azonban csak huzamosabb idejű hőstressznek kitett sejtekben mutattak (Kuczynska-Wisnik és mtsai, 2002). Egy másik tanulmány -IbpA/B túltermelő sejtvonalakat használva- ugyanakkor rámutatott, hogy az IbpA/B jóval gyorsabban is képes lehet a sejt túlélését befolyásoló védelmet nyújtani (Kitagawa és mtsai, 2000). Mindez azt sugallta, hogy a sHsp-k **a fehérjevédelmen kívül más védelmi funkciót is elláthatnak stressz körülmények között**. Ez a fölismerés és az a tény, hogy **az IbpA/B membránokhoz asszociált** (Miyake és mtsai, 1993; Laskowska és mtsai, 1996; Kuczynska-Wisnik és mtsai, 2002), továbbá, hogy **az *E. coli* hősokkválasz beindítása, sőt a termorezisztencia kialakulása pusztán a membrán lipid fázis szelektív módosításával elérhető** (Shigapova és mtsai, 2005) vezetett a kérdésfölvetéshez, hogy **vajon az IbpA/B szerepet játsz(hat)nak-e az *E. coli* membrán(ok) védelmében**.

Ennek megválaszolására **ΔIbpAB és WT sejteket teszteltünk *in vivo* membrán fenotípusukban található különbségek után kutatva**, ill. **tisztított fehérjék lipid kölcsönhatásait vizsgáltuk *in vitro***.
Ugyanakkor **a ΔIbpAB kontsrukcióban az IbpA-t, IbpB-t, IbpAB-t túltermeltetve vizsgáltuk a sHsp-k közvetlen membránvédő szerepét, valamint a két sHsp esetleges funkcióbeli különbségét vagy együttműködését.**

MÓDSZEREK

1. *Synechocystis* PCC 6803

A *Synechocystis* sejteket fotoautotróf körülmények között, BG-11 tápoldatban növesztettük 30 °C-on, és exponenciális növekedési szakaszukban használtuk fel a kísérletekhez. A kontroll sejtkultúrákat 30 °C-on tartottuk, a fény és a hő akklimatizációs szerepének viszgálata céljából pedig 42 °C-on, 3 órán át inkubáltuk a sejteket fényben és sötétben. A Hsp17 pontmutáns sHsp-ket expresszáló sejtvonalak a megfelelő hsp17 pontmutánst hordozó pNaive plazmid dupla deléciós mutáns sejtekbe (Δ*hsp17*, Δ*clpB*) történő integratív transzformációjával készültek.

A fotoszintézis hőinaktiválódási folyamatát az oxigén fejlődés mérésével, míg a PSII fehérje komplexek hőstabilitását a hőindukálta „steady-state" klorofill *a* fluoreszcencia változás mérésével követtük intakt sejtekben. Az UV-B stressznek kitett Hsp17 pontmutáns sHsp-ket expresszáló sejtek PSII aktivitására jellemző oxigén fejlődés értékeket fényben végzett hőakklimatizációt követően mértük.

Az izolált tilakoid membránok „átlagos" fluiditás jellemzőjét DPH anizotrópia méréssel követtük a hőmérséklet függvényében. A tilakoid membránok mikroheterogén szerveződésének vizsgálatához a DPH fluoreszcens jelölő életidő eloszlását elemeztük.

A vad típusú és pontmutáns Hsp17 fehérjéket *E. coli*-ban termeltettük. A sejteket szonikálással tártuk föl, a sHsp-ket ammónium-szulfát precipitálás, cukorgradiensen történő elválasztás, majd kromatográfia (DEAE ioncserélő és „HiTrap Butyl" hidrofób oszlopok) segítségével tisztítottuk. A fehérjék koncentrációját microBCA módszerrel határoztuk meg.

A sHsp-lipid kölcsönhatás biokémiai vizsgálatához liposzómákat (LUV) és tisztított fehérjéket inkubáltunk egymással. A LUV-okat leülepítve lipid kötött és nem kötött frakciókra választottuk az elegyet, amelyek fehérje tartalmát SDS-PAGE-val elemeztük. Az izotóp jelölt liposzómákkal végzett kísérletek során a gél izotóp tartalmát autoradiográfia segítségével tettük láthatóvá.

2. *Escherichia coli*

Az MC4100 vad típusú és ΔIbpAB ill. az IbpA, IbpB, IbpAB termelő plazmidokat hordozó ΔIbpAB *E. coli* sejteket 30 °C-on LB tápoldatban növesztettük. A különböző sejtkultúrákat exponenciális növekedési szakaszban használtuk fel a kísérletekhez. Hősokkolt minták ellőállításához a sejteket 50 °C-on ill. membrán permeabilitás méréseknél a 30-70 °C hőmérséklet tartományban inkubáltuk 15 percen át.

Az *E. coli* membránok izolálásához a sejteket „French press" segítségével tártuk föl, majd a preparátumból többszöri elválasztást (pl. háromrétegű cukorgradiens) követően nyertük a külső és belső membrán frakciókat.

A membrán, mégpedig leginkább a külső membrán károsodásának jellemzésére NPN fluoreszcencia követésen alapuló permeabilitás méréseket használtunk. A különböző sejttípusokat páronként hasonlítottuk össze, ahol a ΔIbpAB sejt minden esetben viszonyítási alapként szolgált.

A vad típusú és ΔIbpAB kontroll és hősokkolt sejtek membránjainak fluiditását azok perifériális ill. zsírsav régiójában TMA-DPH ill. DPH anizotrópia méréssel határoztuk meg.

Általános módszerek

A különböző minták fehérjeösszetételét egydimenziós SDS-poliakrilamid gélelektroforézissel (SDS-PAGE) elemeztük. A fehérjéket Coomassie festéssel tettük láthatóvá.

A teljes sejt és izolált membrán vagy citoszolikus frakciókat anti-Hsp17, anti-GroEL/Cpn60, anti-DnaK ill. anti-IbpAB ellenanyagokkal vizsgáltuk.

A lipideket kloroform:metanol (1:2) extrakciós eljárással nyertük ki a sejtekből, az izolált membránokból és a liposzóma rendszerekből. A neutrális (TNL) és poláros lipideket (TPL) ill. a TPL lipidosztályokat vékonyréteg kromatográfia (TLC) segítségével választottuk el. A minták zsírsavösszetételét GC-MS analízis segítségével határoztuk meg. A lipid molekula specieszek fejcsoport és zsírsav ill. zsírsav pozíció azonosítása LC-MS technikával történt.

^{14}C-izotópjelölt totál polár lipid keverék előállításához ^{14}C-$NaHCO_3$-tal jelöltük a cianobakteriális sejteket. Az 1-oleil-2-palmitoil-foszfatidil-glicerolt (OPPG) a megfelelő PC-ből (OPPC) foszfolipáz D katalizálta heterogén reakcióban állítottunk elő. Az izolált lipidek teljes mértékű heterogén katalitikus hidrogénezését PdRh-PVPP katalizátor segítségével, H_2 atmoszféra alatt valósítottuk meg.

Liposzóma modell rendszerekként többrétegű vezikulákat (MLV) vagy az azokból szonikálással előállított kisméretű, egyrétegű vezikulákat (SUV) ill. extrúziós eljárással nyert nagyméretű, egyrétegű vezikulákat (LUV) használtunk.

Az i*n vitro* sHsp-lipid kölcsönhatás és a tiszta lipid rendszerek (stabilitásának) jellemzésére az ún. (i) „monolayer" technikát használtuk valamint a (ii) liposzóma rendszerek fluiditását követtük azok lipid fejcsoport (TMA-DPH anizotrópia) és zsírsav (DPH anizotrópia) régiójában. (i) A tiszta lipidek fizikai sajátságait vizsgálandó, a pufferre rétegzett monomolekulás lipid réteg izobár hőmérséklet görbéjét vettük föl a felület nagyságát követve. A fehérje-lipid kölcsönhatás kísérletekhez állandó felület mellett a lipidréteg kétdimenziós nyomását, azaz a kezdeti felületi feszültséget változtattuk izoterm körülmények között. Az így meghatározott lipid felszín alá injektáltuk a fehérjét, és állandó kevertetés mellett követtük a felületi feszültség változását, melynek mértéke ill. sebessége arányos a fehérje inszerciós, lipid kölcsönható képességével. (ii) A *Synechocystis* lipidekből előállított lipid membrán stabilitásának vizsgálatához SUV, a Hsp17 mutáns fehérjék lipid kölcsönhatásának tanulmányozása céljából LUV liposzóma modell rendszereket használtunk, melyek fluiditását azok zsírsav régiójában követtük. Az IbpA, IbpB és IbpAB lipid kölcsönhatását LUV liposzóma modell rendszereken tanulmányoztuk, amelyek fluiditását TMA-DPH ill. DPH jelölőkkel vizsgáltuk.

EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

I. *Synechocystis* PCC 6803

1/a A *Synechocystis* sejtek ill. tilakoid membrán és fotoszintetikus funkció hőakklimatizációs folyamatait tanulmányozva a következő megállapításokat tehetjük.

(**i**) Megállapítottuk, hogy egy szubletális (3 h, 42 °C) **kondícionáló hőstressz kizárólag a fény jelenlétében vezet a fotoszintetikus membrán funkció** (PSII aktivitás) **megnövekedett hőstabilitásához.** Ezzel párhuzamosan kizárólag a fényben történő hőedzés eredményezte **a tilakoid membrán stabilitásának jelentős növekedtét** ill. **a membrán mikrodomén szerveződésének átalakulását**.

(**ii**) A tilakoid membrán és a fotoszintetikus funkció hőstabilitását növelni képes tényezők után kutatva megállapítottuk, hogy lipid és fehérje eredetű változások egyaránt szerepet játszhatnak a rövidtávú akklimatizációs folyamatokban. Az általános lipid kettős kötés tartalom csökkenés mellett **egy rendkívül telített MGlcDG, az ún. „hősokklipid" jelent meg a fényben végzett hőedzés során**, amely fizikai tulajdonságai (fejcsoportja és rendkívüli telítettsége) alapján a membrán (lipid fázis) stabilizálására hivatott. A tilakoid membránt ugyancsak stabilizálni képes tényező **a Hsp17**, amely **kitüntetett módon hat kölcsön a nem kettősréteg-képző lipidekkel (MGlcDG, MGDG)**. **A hősokklipid és a Hsp17** olyan, a membrán lipid fázisának szabályozására képes hatékony védelmi eszközöknek bizonyultak, amelyek egymástól függetlenül vagy együttműködve aktív részesei lehetnek a fényben történő hőedzést kísérő membrán átrendeződésnek, és **hozzájárulhatnak a tilakoid membrán ill. funkció termorezisztencájának kialakulásához.**

(**iii**) A potenciális stabilizáló tényezők lehetséges hatásmechanizmusát kutatva arra a megállapításra jutottunk, hogy **a Hsp17 és a hősokklipid** szerepe egyaránt a lipid fázis fluiditásának és tranzíciós hőmérsékletének olyan irányú módosítása, hogy az a membrán fiziológiás körülményeit igyekezzen fönntartani. Ezt azáltal érhetik el, hogy **képesek a magashőmérsékleti stressz okozta hiperfluidizáció ellensúlyozására ill. a nem kettősréteg-képző lipid fiziológiás struktúrából való kilépésének gátlására.**

1/b A Hsp17-lipid kölcsönhatás mechanizmusát a kölcsönható lipid komponens változtatásának eszközével vizsgálva megállapítottuk, hogy **a Hsp17 lipid molekula speciesz fölismerésen alapuló membrán kölcsönhatását elsősorban a lipid fejcsoport minősége határozza meg, de ez nagymértékben módosul a zsírsavak hosszúsága, pozíciója és azok telítetlensége függvényében is.**

2. A Hsp17-membrán (lipid) kölcsönhatás mechanizmusának további tanulmányozását céloztuk meg olyan sHsp pontmutáns konstrukciók tesztelésével ill. a megfelelő tisztított fehérjék vizsgálatával, amely sejtek stressz toleranciájuk tekintetében ill. a megfelelő fehérjék oligomerizációs tulajdonságukban és *in vitro* fehérjevédő képességükben különböznek a vad típusú sejttől ill. fehérjétől.

(**i**) Olyan mutációk tanulmányozása (L66A, F102S, V143A ill. S2Y), amelyek a Hsp17 oligomer állandósult dimer formára való szétesését ill. az oligomer állapot rögzítését eredményezték, **a membrán (lipid) kölcsönható sHsp oligomer disszociációjának és reasszociációs képességének szükségesség**ére mutatott rá.

(**ii**) **Az aktív, lipid asszociációra képes fehérje formának a dimer, ill. (esetleg) a monomer bizonyult.**

(**iii**) N-terminális mutáns fehérjék (L9P, Q16R) segítségével megállapítottuk, hogy **a Hsp17 N-terminális része hordozza a lipidekkel kölcsönhatni képes fehérje motívumot**. Az L9P ill. Q16R Hsp17 membrán (lipid) asszociációs képessége és tilakoid funkciót védeni képes hatása ugyanis anélkül változott negatív ill. pozitív irányban a vad típusú megfelelőhöz képest, hogy oligomerizációs képességükben eltérnének a kontroll fehérjétől.

(**iv**) **A hőkezelésnek kitett sejtekben a Q16R fehérje kizárólag a tilakoid frakcióban található meg.** E fehérje kivételes membrán aktivitása folytán **a vad típusú sHsp-t is felülmúlóan képes védeni a tilakoid (PSII) funkciót a fotoinhibíciós (UV-B) károsodásoktól.**

(**v**) Az *in vitro* fehérje-lipid kölcsönhatásban tapasztalt változások összhangban vannak a Hsp17 *in vivo* membrán asszociációjával és a sHsp fotoszintetikus membránra gyakorolt hatásával. Ezek alapján **valószínűsíthető, hogy a Hsp17 *in vivo* membrán aktivitását legalább részben a sHsp-lipid kölcsönhatás irányítja**.

II. *Escherichia coli*

A sHsp-membrán kölcsönhatás általános érvényűségét kívántuk vizsgálni az *Escherichia coli* IbpA és IbpB membránok védelmében betöltött esetleges szerepének tesztelésével. Ugyanakkor arra is választ kerestünk, hogy van-e funkcionális jelentősége a két sHsp együttes jelenlétének.

(**i**) Megállapítottuk, hogy **az IbpA/B hősokk során a sejt membránjaihoz** (elsősorban a külső membránhoz) **kötődik**.

(**ii**) Vad típusú és ΔIbpAB sejtek membránjainak permeabilitás és fluiditás jellemzőit tesztelve *in vivo* megállapítottuk, hogy a sHsp-k membrán jelenlétével összhangban **a ΔIbpAB sejt membránjai permeabilisabbak és a perifériális régióban fluidabbak a vad típusú megfelelőhöz képest magashőmérsékleti stressz során**.

(**iii**) Minthogy **az IbpA, IbpB és IbpAB jelentősen csökkenti a liposzóma membránok fluiditását azok lipid fejcsoport régiójában *in vitro***, az IbpA/B membrán jelenléte ill. hiánya valóban állhat a két sejttípus membrán fenotípusa között tapasztalt különbség hátterében. **A ΔIbpAB sejtben IbpA, IbpB vagy IbpAB expresszióval részlegesen helyreállítható a vad típusú sejt membrán fenotípusa *in vivo*, amely ugyancsak a sHsp-k közvetlen membránvédelmi szerepéről tanúskodik.**

(**iv**) Az IbpAB -a meglehetősen lassú fehérjevédelmi funkciójával összahasonlítva- a sejt membrán integritásának gyors védelmére hivatott a magashőmérsékleti stresszel szemben.

(**v**) **Az IbpA hatékonyabb membránvédelmi eszköznek bizonyult, mint az IbpB *in vivo* és *in vitro* egyaránt.** Mivel a fehérjevédelmi feladatban viszont az IbpB mutatkozik hatákonyabbnak, a két sHsp között egyfajta „munkamegosztás” rajzolódik ki. Mindkét feladatkört talán egy jól meghatározott összetételű IbpA/B komplex látja el.

(**vi**) **A ΔibpAB mutáció a membrán hidrofób régiójának fluidizációját is eredményezte**. Bár a sHsp-k kis mértékben képesek csökkenteni a liposzóma membránok fluiditását azok zsírsav régiójában, a hiányukban normál körülmények között is fönnálló membrán fluiditás különbség azt sejteti, hogy nincs közvetlen összefüggés az IbpA/B membrán jelenléte és a membrán hidrofób régiójának fluiditás szabályozása között. **Ennek hátterében minden bizonnyal a membrán lipidek zsírsavjainak**

szabályozása áll. A sHsp-k hiányában ugyanis **a sejt egy szokatlan, egyedi lipidváltoztatást eszközöl, ami a 18:1v zsírsav gyarapodásával jár együtt** mind normál, mind hőstressz körülmények között. Az IbpA, IbpB vagy IbpAB expresszió mind befolyásolja a membránok zsírsavösszetételét, amely arról árulkodik, hogy ha nem is közvetlen módon, de **a sHsp-k jelenléte hatással van a membránok hidrofób régiójának zsírsav- és fluiditás-szabályozására is**.

Az elért eredmények gyakorlati jelentősége

A cianobakteriális sejt hőakklimatizációs folyamatainak és az abban szerepet játszó tényezőknek a tanulmányozásával példát mutattunk arra, hogy a sHsp-membrán (lipid) kölcsönhatás funkciójának és mechanizmusának megértésével **olyan fehérje szerkezeti** (ld. pontmutációk) **vagy lipid összetételbeli** (ld. pl. MGlcDG) **módosítások tervezhetők, amelyekkel megjósolható módon befolyásoljuk a tilakoid membrán funkciót ill.** tágabb értelemben véve **a cianobakteriális sejt stressz akklimatizációs képességét**. Ilyen eredményekre (ld. pl. Q16R mutáns) épülő alkalmazott kutatások elvezethetnek pl. olyan **transzgénikus haszonnövények** kifejlesztéséhez, amelyek **nagyobb aszálytűrő képességgel** rendelkeznek.

Minthogy a sHsp-k ill. membrán asszociációjuk összefüggésbe hozhatók egy sor aktuális, gyakorlati jelentőségű kérdéssel (pl. fertőzések; autoimmun, degeneratív, kardiovaszkuláris betegségek, rák; szignál folyamatok, stb.), távlatibb célként megjelölve, membrán (lipid) kölcsönhatásuk mechanizmusának ismeretében a kölcsönhatás irányított módosítása komoly lehetőséget vagy előrelépést jelenthet a fentebb említett problémák megoldásában.

PUBLIKÁCIÓS LISTA

(*Az értekezés alapjául szolgáló cikkek és kéziratok)

Kukovecz, A., **Balogi, Z.**, Kónya, Z., Toba, M., Lentz, P., Niwa, S.-I., Mizukami, F., Molnár, A., Nagy, J.B., Kiricsi, I. Synthesis, characterisation and catalytic applications of sol-gel derived silica-phosphotungstic acid composites, *Applied Catalysis A, General* 228 (1-2) (2002) 83-94.

*Tsvetkova, N.M., Horváth, I., Török, Z., Wolkers, W.F., **Balogi, Z.**, Shigapova, N., Crowe, L.M., Tablin, F., Vierling, E., Crowe, J.H., Vígh, L. Small heat-shock proteins regulate membrane lipid polymorphism, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99 (21) (2002) 13504-13509.

***Balogi, Z.**, Török, Z., Balogh, G., Jósvay, K., Shigapova, N., Vierling, E., Vígh, L., Horváth, I. "Heat shock lipid" in cyanobacteria during heat/light-acclimation, *Arch. Biochem. Biophys.* 436 (2005) 346-354.

Horváth I., Glatz A., **Balogi Z.**, Balogh G., Puskás L.G., Jósvay K., Liberek K., Debreczeny M., Hunyadi-Gulyás M., Medzihradszky E., Goloubinoff K.F., Vígh L. The emerging role for small heat shock proteins in the regulation of composition and dynamics of cell membranes, *Chem. Phys. Lipids* 130 (1) (2004) pp. 29.

Balogi, Z., Glatz, A., Balogh, G., Nagy, E., Liberek, K., Debreczeny, M., Goloubinoff, P., Horváth, I., Vígh, L. The emerging role for small heat-shock proteins in the regulation of lipid composition and dynamics of cell membranes, *FEBS J.* 272 (2005) pp. 358.

***Balogi, Z.**, Cheregi, O., Debreczeny, M., Giese, K., Vierling, E., Vass, I., Vígh, L., Horváth, I. Mutations in *Synechocystis* Hsp17 specifically modify the membrane activity of this small heat shock protein, (manuscript in preparation)

***Balogi, Z.**, Glatz, A., Jósvay, K., Nagy, E., Balogh, G., Debreczeny, M., Juhász, K., Liberek, K., Goloubinoff, P., Mogk, A., Bukau, B., Vígh, L., Horváth, I. Deletion of small heat shock proteins IbpA and IbpB alters the membrane phenotype of *E. coli* cells, (manuscript in preparation)