A *Saccharomyces cerevisiae* Rad5 aktivitásainak genetikai vizsgálata

Ph.D. értekezés tézisei

Tóth Róbert

Témavezető: Dr. Haracska Lajos

Szegedi Biológiai Kutatóközpont

Genetikai Intézet

Szegedi Tudományegyetem

Természettudományi és Informatikai Kar

Biológia Doktori Iskola

2022

Szeged

Bevezetés

Korunk rettegett betegsége a rák. Ennek, a sok esetben gyógyíthatatlan betegségnek a kialakulása szoros kapcsolatban áll a DNS károsodásával és a megváltozott örökítő anyag miatti elszabadult sejtosztódással. Daganatok kialakulásához köztudottan a sejtek korlátlan osztódása vezet, amiért általában az érintett sejtekben szomatikusan indukálódott mutációk a felelősek. A környezetben lévő és a táplálékkal felvett mutagén vegyületek és a DNS károsító sugárzások hatására gyakran sejtmagi DNS-károsodás lép fel. Amennyiben az örökítő anyag károsodása nem javítódik ki időben, az osztódások során fixálódó mutációk felhalmozódása daganatképződéshez vezet. Ezért létfontosságú a többsejtű élőlények számára, hogy valamilyen módon el tudják távolítani ezeket a károsodásokat. Erre több hibajavító mechanizmus és fehérje is kialakult a sejtekben, melyek rendkívül konzerváltak, a legtöbbjük élesztőben és emberben egyaránt megtalálható. Soksejtű élőlényekben a DNS károsodása és a klonálisan megjelenő mutációk csak nehezen vizsgálhatók. A DNS hibajavítási folyamatok tanulmányozására és az egyes szereplők és protein-komplexek feladatának és aktivitásának megismerésére a kis mérettel, rövid életciklussal, jó keresztezhetőséggel és könnyű transzformálhatósággal rendelkező pékélesztő, *Saccharomyces cerevisiae*, remek modell-organizmusnak bizonyult.

A DNS-hibajavító folyamatok egy része - például a nukleotidkivágó hibajavítás (Nucleotide Excision Repair - NER), a báziskivágó hibajavítás (Base Excision Repair - BER) vagy a nem párosodó bázisok eltávolítását végző hibajavítás (Mismatch Repair - MMR) - a károsodások eltávolítását végzi. A *RAD6* DNS-hibatolerancia útvonalba tartozó fehérjék azonban a károsodásokat nem távolítják el, hanem csak az elakadt replikációt menekítik, mert a replikáció végleges leállása a sejt halálához vezet. A *RAD6* DNS hibatolerancia útvonal nyomán menekített replikáció után megmaradó DNS-károsodásokat a fentebb említett folyamatok (NER, BER) tudják később eltávolítani. Ha a DNS szintézise leáll, akkor a Rad6 E2 ubikvitin konjugáz és a Rad18 E3 ubikvitin ligáz fehérjék komplexe ubikvitinálja a replikatív polimeráz processzivitási faktorát, a PCNA-t a 164-es lizinen. A keletkező monoubikvitin-PCNA aktiválja a polimeráz-váltás folyamatát, a replikatív polimeráz helyett egy transzléziós polimeráz folytatja a DNS szintézisét a hibával szemben. Élesztőben három TLS polimeráz ismert: a Polη (Rad30), a Polζ (Rev3-Rev7) és a Rev1. A Polη specifikusan az UV sugárzás által kialakított ciklobután pirimidin (TT) dimerek hibamentes átírásában játszik szerepet. A Polζ azonban többféle károsodással szemben is képes folytatni a DNS szintézisét, nagy valószínűséggel hibás nukleotidot építve be a hibákkal szembe a DNS-láncba, ezért hibajavítási folyamata gyakran mutagén. Ebben a mutagén útvonalban vesz részt a Rev1

polimeráz is, amely csak citozint képes beépíteni a DNS szintézise során, de jelenlegi ismereteink szerint aktivitása rendkívül alacsony, valószínűleg csak szabályozó szereppel bír a folyamatban.

A transzléziós DNS-szintézis azonban nem képes átírni minden károsodott DNS-szakaszt. Néhány esetben teljesen eltérő mechanizmusra van szükség. A DNS-hibatolerancia útvonalba tartozó Rad5 - amely a humán HLTF és SHPRH fehérjék élesztő homológja - templátváltás útján menekítheti az elakadt replikációs villát. A templátváltás során az elakadt, újonnan szintetizálódott DNS-szál a másik, új szálat használja templátként, így a hibával szemben mindig a helyes nukleotid épül be. Ennek a folyamatnak az egyik ismert modellje a villa-visszafordítás, amikor is a *SWI/SNF* típusú helikáz/ATPáz doménnel rendelkező Rad5 visszafordítja a replikációs villát, és így átmenetileg egy csirkeláb-szerű DNS-szerkezetet hoz létre. A károsodással szembeni DNS-szakasz szintézise után pedig a villaszerkezet helyreáll és folytatódik a replikáció.

A Rad5 fehérjében a helikáz/ATPáz doménen kívül egy HIRAN és egy RING domén is található. A HIRAN domén a szubsztrát felismerésben játszik szerepet, míg a RING domén E3 ubikvitin ligáz aktivitással rendelkezik. Ez az aktivitás az Mms2-Ubc13 E2 ubikvitin konjugáz fehérjék komplexével képes poliubikvitinálni a monoubikvitin-PCNA-t az ubikvitin fehérjék 63-as lizinjein keresztül. A poliubikvitin-PCNA pontos szerepe ma még ismeretlen.

Ezeken az aktivitásokon kívül, a Rad5 más funkciókkal is rendelkezik, kölcsönhat a Rev1 fehérjével, illetve szerepe van a Polζ függő TLS folyamatában is. Nem ismert, hogy a Rad5 ubikvitin ligáz vagy helikáz/ATPáz aktivitása részt vesz-e ezekben a folyamatokban. Az irodalmi adatok ellentmondásosak azzal kapcsolatban is, hogy a Rad5 ubikvitin ligáz és helikáz/ATPáz aktivitása milyen módon működik együtt a hibajavítás folyamatában.

Célkitűzések

Kísérleteinkben célul tűztük ki, hogy eldöntsük:

- a Rad5 helikáz/ATPáz aktivitása és ubikvitin ligáz aktivitása egymástól független funkció-e, vagy pedig ezek az aktivitások minden esetben együtt működnek. Ebből a célból olyan mutánsokat kerestünk, amelyek specifikusan a Rad5 egyik, vagy másik aktivitását rontják el. Ezért az irodalomban ismert Rad5 mutáns fehérjéket túltermeltük és kitisztítottuk, majd *in vitro* megvizsgáltuk helikáz és ubikvitin ligáz aktivitásukat. A legmegfelelőbb Rad5 mutánsok kiválasztása után megvizsgáltuk, hogy a két ismert aktivitás egymástól függetlenül működik-e.

- a Rad5 ezeken az aktivitásokon kívül rendelkezik-e valamilyen további szereppel a DNS-hibatolerancia folyamatában. Ehhez a helikáz/ATPáz és ubikvitin ligáz kettős mutáns *rad5* törzsünk érzékenyégi fenotípusát a *rad5Δ* deléciós mutáns törzzsel hasonlítottuk össze túlélési kísérletekben.

- a Rad5 aktivitásainak elvesztése hogyan befolyásolja a spontán mutációk kialakulását. Valamint ezen funkciók hiánya milyen arányban módosítja az UV kezelés hatására létrejött mutációk összetételét.

- a Rad5 valamelyik aktivitása együttműködik-e a TLS polimerázok (Rev1, Polζ) bármelyikével. Eddig még senki sem bizonyította, hogy a Rad5 bármely aktivitása együttműködne a TLS polimerázokkal.

- a Rad5 HIRAN doménje szerepet játszik-e a fehérje aktivitásának meghatározásában.

Alkalmazott módszerek

- Spot assay: különböző élesztő törzsek mutagén kezelésre mutatott érzékenységének az összehasonlítására.
- Túlélési görbe: a különböző élesztő törzsek mutagén kezelésre mutatott érzékenységének a kvantitatív összehasonlítására és statisztikai vizsgálatára.
- Növekedési görbék: a *rad5* mutáns törzsek növekedési kinetikájának megváltozását vizsgáltuk MMS mutagén ágens jelenlétében.
- Kanavanin rezisztencia alapú spontán mutagenezis kísérlet: a *rad5* mutáns törzsekben spontán kialakuló *can1* mutációk keletkezésének a gyakoriságának vizsgálatára.
- Teljes genom szekvenálás: az UV-indukált mutációk típusainak az arányát mértük ezzel a módszerrel a *rad5* mutáns törzsekben.
- A Rad5 expressziójának a vizsgálata: a Rad5 mutáns fehérjék expressziójának a szintjét ellenőriztük.
- Fehérjetisztítás: a Rad5 mutáns fehérjéket tisztítottuk további biokémiai kísérletekhez.
- Helikáz assay: a Rad5 mutáns fehérjék helikáz aktivitását vizsgáltuk, *in vitro* oligonukleotid alapú replikációsvilla-szerű DNS szubsztráton.
- *In vitro* ubikvitin ligáz assay: a tisztított Rad5 mutáns fehérjék ubikvitin ligáz aktivitásának mérése (PCNA szubsztráton).
- *In vivo* PCNA poliubikvitinálás vizsgálat: a *rad5* mutáns törzsekben vizsgáltuk a PCNA poliubikvitinálásának a szintjét MMS kezelést követően, hogy igazoljuk a Rad5 mutáns fehérjék ubikvitin ligáz aktivitását.

Eredmények

A *rad5* mutánsok *in vitro* és *in vivo* vizsgálata

Ahhoz, hogy a Rad5 aktivitásainak egymáshoz való viszonyát behatóan vizsgálni tudjuk, olyan mutánsokra volt szükségünk, amelyek a fehérjének csak egy meghatározott funkcióját rontják el, míg más aktivitások érintetlenek maradnak. Ezért az irodalomban ismert *rad5* mutáns törzsek mutagénkezelésre (UV, MMS) adott érzékenységének igazolása után ezeket a mutáns fehérjéket túltermeltük, tisztítottuk és biokémiai vizsgálatokat - *in vitro* helikáz és ubikvitin ligáz kísérleteket - végeztünk velük. A nagyobb érzékenységet mutató helikáz/ATPáz mutáns (DE681,682AA) törzsben expresszált Rad5-DEAA fehérje képes volt *in vitro* és *in vivo* poliubikvitinálni a monoubikvitin-PCNA fehérjét, míg az alacsonyabb érzékenységű mutáns (K538A) törzsben expresszált Rad5-KA fehérjét nem sikerült túltermelnünk és nagyobb mennyiségben tisztítanunk, ezért az első mutánst választottuk további kísérleteinkhez.

Az ubikvitin ligáz mutánsok közül a nagyobb érzékenységet mutató mutáns (CC914,917AA) törzsben expresszált Rad5-CCAA fehérje tisztítva sem ubikvitin ligáz, sem helikáz aktivitást nem mutatott. A CC914,917AA mutációt hordozó élesztő törzs viszont nagyobb érzékenységet mutatott UV és MMS kezelésre, mint az *mms2Δ*. Ez az ubikvitin ligáz mutáció tehát nem specifikus, valószínűleg a Rad5 fehérje teljes térszerkezetét elrontja. Az alacsonyabb érzékenységet mutató ubikvitin ligáz mutáns (I916A) törzsben expresszált Rad5-IA fehérje alacsonyabb helikáz aktivitást mutatott, mint a vad típusú, de ez a csökkent aktivitás *in vivo* elegendőnek bizonyult, ugyanis ez az ubikvitin ligáz mutáció nem növelte az *mms2Δ* törzs érzékenységét UV és MMS kezelésre. Ezért ezt az alacsonyabb érzékenységet mutató ubikvitin ligáz mutánst választottuk a további kísérletekhez.

A *rad5* helikáz/ATPáz és ubikvitin ligáz mutánsok genetikai kapcsolata

Miután a biokémiai jellemzés után kiválasztottuk a legalkalmasabb mutánsokat, ubikvitin ligáz és helikáz/ATPáz kettős mutáns élesztő vonalat hoztunk létre, hogy megvizsgáljuk az *in vivo* érzékenységét mutagénkezelésre (UV, MMS). Az ubikvitin ligáz és helikáz/ATPáz kettős mutáns törzs nagyobb érzékenységet mutatott, mint az egyszeres mutánsok bármelyike, mivel ez a két aktivitás egymástól független szereppel rendelkezik a DNS-hibatolerancia folyamatában. Eredményünket megerősítette, hogy a helikáz/ATPáz és *mms2Δ* kettős mutáns törzs is nagyobb érzékenységet mutatott, mint az egyszeres mutánsok MMS és UV kezelésre. Mivel kísérleteinkben az ubikvitin ligáz és helikáz/ATPáz kettős

mutáns törzs kevésbé volt érzékeny, mint a *rad5Δ* MMS és UV kezelésre, kimutattuk, hogy a Rad5 fehérje az említett két aktivitáson kívül még más aktivitással is rendelkezik.

A spontán és az UV-indukált mutációk vizsgálata a *rad5* mutáns törzsekben

A következő lépésben a Rad5 harmadik aktivitásának a mutagenezisben betöltött szerepét vizsgáltuk. Mivel a helikáz/ATPáz és ubikvitin ligáz kettős mutánshoz képest a *rad5Δ* mutáns törzsben jelentősen lecsökken a spontán mutációs események gyakorisága feltételeztük, hogy a Rad5 harmadik aktivitása a mutációkat generáló TLS polimerázokkal - a Rev1 és Polζ fehérjékkel - működhet együtt. Teljes genom szekvenálás alapján az UV-indukált mutációs spektrum jelentős különbséget mutatott a helikáz/ATPáz és ubikvitin ligáz kettős mutáns és a *rad5Δ* törzs között a C>G és a T>C mutációk szempontjából. Ezeknek a mutációknak az aránya a kettős mutánsban nagyobb, míg a *rad5Δ* törzsben kisebb, mint a vad típusban. A C>G és a T>C mutációk kialakítása a Rev1 és Polζ TLS polimerázokhoz köthető, emiatt feltételeztük, hogy a Rad5 harmadik funkciója a Rev1 és Polζ fehérjékkel együtt vesz részt a DNS-hibatolerancia folyamatában.

A *rad5* mutánsok és a TLS polimerázok genetikai kapcsolata

Ezután azt vizsgáltuk, hogy a Rad5 harmadik aktivitása együttműködik-e a mutagén TLS polimerázokkal, ezért kettős mutánsokat hoztunk létre a TLS polimeráz gének delécióival (*rev1Δ, rev3Δ, rev7Δ*) és a *rad5* mutánsokkal. Kísérleteinkben *rev3Δ* háttéren az ubikvitin ligáz és helikáz/ATPáz kettős mutáns törzs ugyanolyan érzékenységet mutatott, mint a *rad5Δ* MMS és UV kezelésre egyaránt. Ugyanezt az eredményt kaptuk *rev1Δ* és *rev7Δ* háttéren is. Ez utóbbi eredményünk azzal magyarázható, hogy a Rad5 harmadik aktivitása – ami független az ubikvitin ligáz és helikáz/ATPáz aktivitásaitól – minden esetben együttműködik a Rev1 és Polζ TLS polimerázokkal, és a Rad5 ezen a három aktivitásán kívül nem rendelkezik más funkcióval.

A HIRAN domén mutáns *rad5* törzsek *in vivo* és *in vitro* vizsgálata

Kísérleteinkben a HIRAN domén szerepére is kíváncsiak voltunk. Szerettük volna megállapítani, hogy a HIRAN domén a Rad5 három aktivitása közül melyekkel működhet együtt. *In vitro* és *in vivo* kísérleteink alapján a Rad5 HIRAN doménje nem csak a helikáz aktivitáshoz szükséges, hanem az ubikvitin ligáz aktivitáshoz is, ellentétben a humán homológban, a HLTF fehérjében tapasztaltakkal. A HLTF HIRAN doménben mutációt hordozó sejtvonal UV érzékenysége kisebb, mint a HLTF csendesített sejtvonalé. Ehhez hasonlóan a Rad5-GARR HIRAN mutáns fehérje szintén képes részlegesen menekíteni a *rad5Δ* UV érzékenységét. Ezért feltételezzük, hogy a mutáció ellenére a Rad5-GARR a Rev1-Polζ fehérjékkel továbbra is képes lehet kölcsönhatásba lépni.

Értékelés

A több specifikus aktivitással rendelkező fehérjék, mint amilyen a Rad5 is, különböző katalitikus aktivitásaikat gyakran ugyanabban a folyamatban használják fel. Kísérleteinkben megvizsgáltuk azt is, hogy vajon a Rad5 helikáz/ATPáz és ubikvitin ligáz aktivitása együttműködik, vagy egymástól független folyamatokban vesznek részt. Ehhez olyan *rad5* mutánsokra volt szükségünk, amelyek csak az egyik aktivitást rontják el, míg a fehérje többi aktivitása sértetlen marad. Ezért először megvizsgáltuk az irodalomban már ismert *rad5* mutáns törzsek *in vivo* érzékenységét MMS és UV mutagénekre, majd ezeket a mutáns fehérjéket túltermeltettük, kitisztítottuk és megvizsgáltuk az *in vitro* biokémiai aktivitásukat helikáz és ubikvitin ligáz kísérletekben. A legmegfelelőbb mutánsok kiválasztása után kettős mutáns törzset hoztunk létre, és megvizsgáltuk érzékenységét MMS és UV kezelésre. Kimutattuk, hogy a kettős mutáns törzs érzékenyebb, mint az egyszeres mutánsok, ugyanis a helikáz/ATPáz és az ubikvitin ligáz aktivitás egymástól függetlenül működik. Ezenkívül a Rad5 más funkcióval is rendelkezik, ugyanis a *rad5Δ* érzékenyebbnek bizonyult a kettős mutáns törzsnél. Azt is bebizonyítottuk, hogy ez a harmadik aktivitás mutációkat generáló folyamatban vesz részt és minden esetben együttműködik a Rev1 és Polζ TLS polimerázokkal az MMS és az UV indukálta károsodások eltávolításában. Kísérleteinkben ugyan bebizonyítottuk, hogy a Rad5 aktivitásai egymástól független funkciókkal rendelkeznek, eredményeink alapján azonban nem tudjuk egyértelműen kizárni annak a lehetőségét, hogy ezek az aktivitások egymással együttműködve vesznek részt bizonyos folyamatokban.

Summary

It is common, that different activities of a multifunctional protein such as Rad5 act together in the same process. In our experiments, we tested the collaboration of the helicase/ATPase and the ubiquitin ligase activities of Rad5. First, we chose the most appropriate mutants, in which only one activity of Rad5 is disrupted, and the other activities are left intact. We tested the *in vivo* sensitivity of different *rad5* mutants to MMS and UV treatment and also over-expressed, purified, and tested the *in vitro* biochemical activities of these mutants in helicase and ubiquitin ligase assays. Based on these results, we chose the most appropriate helicase/ATPase and ubiquitin ligase mutants and generated a double mutant strain to test its sensitivity to MMS and UV treatment. The helicase/ATPase and ubiquitin ligase double mutant showed higher sensitivity than the single mutants indicating that these activities have independent roles in DDT. In our experiments, the *rad5Δ* strain showed higher sensitivity than the helicase/ATPase and ubiquitin ligase double mutant to MMS and UV treatment demonstrating that Rad5 has another activity as well. We tested the relationship between the activities of Rad5 and TLS polymerases and proved that the third non-canonical activity of Rad5 always acts with the Rev1 and Polζ TLS polymerases, and Rad5 does not have any further functions. Though the activities of Rad5, based on our results, have independent roles in DDT, altough we cannot exclude the possibility of their collaboration.

Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani **Dr. Haracska Lajosnak**, hogy a doktori fokozat megszerzéséhez szükséges munkát a kutatócsoportjában elvégezhettem, illetve azt, hogy hasznos tanácsaival segítette a munkámat.

Köszönöm a segítséget **Dr. Unk Ildikónak, Pintér Lajosnak, Dr. Bajusz Izabellának, Dr. Balogh Dávidnak, Dr. Györfy Zsuzsannának, Dr. Bálint Évának, Dr. Burkovics Péternek, Dr. Mórocz Mónika Krisztinának** és **Dr. Kiss Ernőnek** a kísérletekben nyújtott segítségéért és tanácsaiért.

Köszönöm a segítséget **Kovács Katalin**, **Minorits Szilvia, Bozó-Tóth Anikó, Nótári Péterné Icu**, **Németh Anita** és **Fekete Ildikó** jelenlegi és korábbi szakasszisztenseinknek.

Szeretnék köszönetet mondani **Ádámné Tick Gabriellának**, aki az angol nyelvű közlemények lektorálásában és a disszertációm írásában nyújtott segítséget.

Köszönettel tartozom a **Mutagenezis és Karcinogenezis Csoport** azon jelenlegi és korábbi tagjainak, akik segítették a munkámat.

Köszönöm a segítséget **Dr. Pál Csabának** és a Kísérleti Evolúcióbiológiai Csoport tagjainak, hogy használhattam a műszereiket az élesztő növekedési görbék elkészítéséhez.

Valamint köszönetet szeretnék mondani **Dr. Erdélyi Miklósnak**, az SZBK Genetikai Intézetének igazgatójának és **Prof. Dr. Raskó István** korábbi intézet igazgatónak, hogy intézetük tagja lehettem.

Köszönettel tartozom **Dr. Sinka Ritának** és **Dr. Pirity Melindának**, hogy elvállalták a disszertációm bírálatát.

Szeretnék köszönetet mondani egyetemi tanáraimnak, különösen **Prof. Dr. Boros Imre Miklósnak** és **Prof. Dr. Maróy Péternek**, hogy előadásaik során megismertettek a molekuláris biológia és a genetika világával.

Köszönöm középiskolai biológia tanáromnak, **Bán Sándornak**, hogy segített a biológus szakma választásában.

Valamint köszönöm **családomnak** és **barátaimnak**, hogy támogattak és segítettek az utóbbi években.

Saját közlemények jegyzéke

A doktori eljárás alapját képező 2 db közlemény

Tóth Róbert, Balogh Dávid, Pintér Lajos, Jaksa Gábor, Széplaki Bence, Gráf Alexandra, Györfy Zsuzsanna, Enyedi Márton Zsolt, Kiss Ernő, Haracska Lajos, Unk Ildikó The Rad5 Helicase and RING Domains Contribute to Genome Stability through their Independent Catalytic Activities. J Mol Biol. 2022 Jan 3; 434(5):167437. doi:10.1016/j.jmb.2021.167437. **IF(2020): 5.469** MTMT: 32606165

Mórocz Mónika, Zsigmond Eszter, Tóth Róbert, Enyedi Márton Zsolt, Pintér Lajos, Haracska Lajos DNA-dependent protease activity of human Spartan facilitates replication of DNA–protein crosslink-containing DNA. Nucleic Acids Res. 2017;11:gkw1315. doi:10.1093/nar/gkw1315. **IF: 11.561** MTMT: 3166555

Referált folyóiratban megjelent közlemények

A disszertáció témájához kapcsolódó közlemények

Tóth Róbert, Balogh Dávid, Pintér Lajos, Jaksa Gábor, Széplaki Bence, Gráf Alexandra, Györfy Zsuzsanna, Enyedi Márton Zsolt, Kiss Ernő, Haracska Lajos, Unk Ildikó The Rad5 Helicase and RING Domains Contribute to Genome Stability through their Independent Catalytic Activities. J Mol Biol. 2022 Jan 3; 434(5):167437. doi:10.1016/j.jmb.2021.167437. **IF(2020): 5.469** MTMT: 32606165

Egyéb közlemények

Mórocz Mónika, Zsigmond Eszter, Tóth Róbert, Enyedi Márton Zsolt, Pintér Lajos, Haracska Lajos DNA-dependent protease activity of human Spartan facilitates replication of DNA–protein crosslink-containing DNA. Nucleic Acids Res. 2017;11:gkw1315. doi:10.1093/nar/gkw1315. **IF: 11.561** MTMT: 3166555

Frittmann Orsolya, Gali K Vamsi, Halmai Miklós, Tóth Róbert, Györfy Zsuzsanna, Bálint Éva, Unk Ildikó The Zn-finger of Saccharomyces cerevisiae Rad18 and its adjacent region mediate interaction with Rad5. G3 (Bethesda). 2021 Apr 15;11(4):jkab041. doi:10.1093/g3journal/jkab041. **IF(2020): 3,154** MTMT: 32037907

Tóth Róbert, Halmai Miklós, Györfy Zsuzsanna, Bálint Éva, Unk Ildikó The inner side of yeast PCNA contributes to genome stability by mediating interactions with Rad18 and the replicative DNA polymerase δ. Sci Rep. 2022 Mar 25;12(1):5163. doi: 10.1038/s41598-022-09208-7. **IF(2020): 4,379** MTMT: 32762710

MTMT azonosító: 10081960
Összesített impakt faktor: **24,563**

Nyilatkozat

Alulírott, Dr. Haracska Lajos, nyilatkozom, hogy Tóth Róbert doktori disszertációjában bemutatott eredmények tükrözik a jelölt „*Tóth Róbert, Balogh Dávid, Pintér Lajos, Jaksa Gábor, Széplaki Bence, Gráf Alexandra, Györfy Zsuzsanna, Enyedi Márton Zsolt, Kiss Ernő, Haracska Lajos, Unk Ildikó The Rad5 Helicase and RING Domains Contribute to Genome Stability through their Independent Catalytic Activities. J Mol Biol. 2022 Jan 3; 434(5):167437.*” közleményben bemutatott hozzájárulását.

A doktori értekezésben bemutatott eredmények más doktori fokozatszerzésben nem kerültek felhasználásra. Igazolom, hogy a jelölt munkája meghatározó fontosságú a „*Tóth Róbert, Balogh Dávid, Pintér Lajos, Jaksa Gábor, Széplaki Bence, Gráf Alexandra, Györfy Zsuzsanna, Enyedi Márton Zsolt, Kiss Ernő, Haracska Lajos, Unk Ildikó The Rad5 Helicase and RING Domains Contribute to Genome Stability through their Independent Catalytic Activities. J Mol Biol. 2022 Jan 3; 434(5):167437.*” és a „*Mórocz Mónika, Zsigmond Eszter, Tóth Róbert, Enyedi Márton Zsolt, Pintér Lajos, Haracska Lajos DNA-dependent protease activity of human Spartan facilitates replication of DNA–protein crosslink-containing DNA. Nucleic Acids Res. 2017;11:gkw1315.*” közleményekben.

Szeged, 2022. május 2. Dr. Haracska Lajos