

Az Ape2 fehérje szerepe a DNS reparációban

Burkovics Péter

Ph.D. értekezés

Témavezető: **Dr. Haracska Lajos**

Az értekezés a Szegedi Tudományegyetem Molekuláris Biológiai Ph.D. programjának keretében, az MTA Szegedi Biológiai Központ Genetika Intézetének Mutáció és Karcinogenezis Munkacsoportjában készült

2006

Szeged

Bevezetés

A sejteket folyamatosan érik külső és belső hatások, amelyek károsítják a DNS-t, illetve a sejtmagban található szabad nukleotidokat. DNS sérülést okoz például a nap által kibocsátott UV sugárzás, radioaktív sugárzás, különböző kémiai anyagok vagy a sejt normális metabolikus működése során keletkező reaktív oxigén gyökök. A keletkező DNS hibákat folyamatosan javítani kell, ennek hiányában a felhalmozódó mutációk karcinogenezist indukálhatnak, vagy a sejt halálát okozhatják. Ezért a DNS reparációs rendszerek hibája számos súlyos genetikai betegség forrása lehet, amelyek egy-egy reparációs fehérje hibájának következményei. Ilyen betegségek például a Xeroderma pigmentosum, Cockayne szindróma, Trichotiodistrófia, Bloom szindróma, Werner szindróma, Ataxia telangiectasia, Fanconi anémia, örökletes nempolipózus vastagbél karcinóma. A daganatos megbetegedések hatékony gyógyításához meg kell ismernünk a DNS reparációs folyamatok mechanizmusát, amelyek megfelelő működése képes megakadályozni a karcinogenezist.

A DNS reparációnak számos útját ismerjük. Bár a reparációs utak nagymértékben átfednek, mégsem képesek teljes mértékben kompenzálni egyetlen út kiesését sem. Összefoglalómban két reparációs útról írok részletesen. A bázis excíziós reparáció (BER) elsősorban a kettősszálú DNS-en található hibás bázisok (oxidált, alkilált, dezaminált bázisok), abázikus helyek és az egyesszálú lánctörések javítását végzi. Ennek az útnak a pontos mechanizmusát a későbbiekben részletezni fogom. A felsorolt károsodások közül külső károsító hatás nélkül a legnagyobb számban az oxidált bázisok keletkeznek. A leggyakoribb oxidált bázisok az 5-hidroxi-citozin, a timin-glikol, a 8-oxo-adenin és a 8-oxo-guanin. Kialakulásukat *in vivo* elsősorban az OH gyökök indukálják. Ha a BER során a G1 fázisban nem javított, valamint a replikáció ideje alatt keletkező oxidált bázisok megjelennek a replikációs villában, akkor komoly mutációs forrássá válhatnak, aminek oka a replikatív polimeráz 8-oxoG-nal szembeni mutagén működése, amelyet a későbbiek során részletesen kifejték.

A replikációs villában a DNS hibajavításért posztreplikációs reparáció (PRR) és a transzléziós szintézis (TLS) felelős. A PRR mechanizmusa kevésbé ismert. Az

eddig ismereteink alapján olyan modell vált elfogadottá, amelyben a replikációs villában tempát szál váltás történik, amely során a villa visszafordul, amíg a sérült részt átírja, az ép szálról már megszintetizált DNS láncot használva templátnak. Ez a mechanizmus hibamentes átírást tesz lehetővé úgy, hogy a normális replikációs komplex végzi a DNS szintézist. A TLS mechanizmusa lényegesen jobban feltárt. Ebben a folyamatban transzléziós (TLS) DNS polimerázok vesznek részt. Ezek a DNS polimerázok (az Y család és B család egyes tagjai) nem rendelkeznek a „klasszikus” DNS polimerázokra jellemző szekvenciamotívummal, ugyanakkor a térszerkezetük nagy hasonlóságot mutat. A lényegi különbség a szerkezetben az, hogy a TLS polimerázok aktív centruma nagyobb és flexibilisebb, így a sérült nukleotidok kötésére is alkalmas. A TLS polimerázok biokémiai jellemzőiben nagymértékű eltérést mutatnak a replikatív DNS polimerázoktól. Kis processzivitású és kis pontosságú DNS polimerázok, ami azt jelenti, hogy bár sok hibát vétenek, de működésük csak egy rövid DNS szakaszra korlátozódik. A TLS és a replikatív polimerázok közös tulajdonsága, hogy *in vivo* a PCNA-hez (a replikációs komplex központi fehérjéje) kapcsolva működnek. Ugyanakkor a TLS polimerázok által átírt DNS szakasz hosszát (a TLS polimeráz processzivitását) nem növeli meg a PCNA-val való interakció, ellentétben a replikatív polimerázokkal. Éppen ezért valószínűleg a PCNA lehet az a felület, amelyen keresztül szabályozódik a replikatív és TLS DNS polimerázok cseréje a replikációs komplexben. A TLS polimerázok lehetnek hibamentes (error-free) és mutagén (error-prone) működésűek, amely tulajdonság elsősorban az éppen átírt DNS hiba és az átírást végző TLS polimeráz minőségétől függ. *In vitro* kísérletek azt mutatták, hogy a TLS polimerázok működése nem korlátozódik csak a DNS hibára, hanem ép templát szállal szemben is nukleotidokat építenek be. A működésük során fellépő nagy hibaszázalék miatt a sejt számára káros, ha a TLS polimerázok a DNS hibán áthaladva az ép templátzállal szemben további nukleotidokat építenének be. Ennek egyik gátja a TLS polimerázok alacsony processzivitása. Ugyanakkor a TLS polimerázok nem rendelkeznek saját 3'-5' exonukleáz (proofreader) aktivitással, ami az alacsony pontosságuk egyik oka a tág és flexibilis aktív centrum mellett, ezért feltételezhető, hogy *in vivo* létezik egy eddig azonosítatlan proofreader alegység, amely funkciója kettős lehet. Egyrészt, mint egy proofreader, a helytelenül beépített nukleotidok eltávolításában és így a TLS polimerázok pontosságának *in vivo* növelésében lehet szerepe, másrészt elképzelhető, hogy 3'-5' exonukleáz aktivitása az a mechanizmus, amely csak a hiba átírására

korlátozza a TLS polimerázt, meggátolva, hogy az ép templáttal szemben is működjön.

A PCNA (proliferating cell nuclear antigen) fehérje egy gyűrű alakú homotrimer molekula, amelyet a replikatív DNS polimeráz, a DNS polimeráz- δ és DNS polimeráz- ϵ processzivitási faktoraként írtak le. A PCNA homotrimer körbeöleli a DNS-t, és mint egy csúszó kapocs halad rajta. Az RFC (replikációs faktor C) fehérje képes a PCNA-t a DNS-re juttatni (kinyitni, majd újra összezární) az RPA (replikációs protein A) jelenlétében. Az utóbbi évek eredményei azt mutatják, hogy a PCNA számos, a sejtciklusban (ciklin D, p21) és a DNS reparációban (XPG, UNG, transzléziós polimerázok) szerepet játszó fehérjével is kölcsönhatásba lép. Ezek alapján egyértelműnek tűnik, hogy a PCNA központi szerepet játszik a DNS szintetizálás és javítás folyamataiban, valamint a sejtciklus szabályozásának is az egyik célpontja lehet.

A PCNA-vel kölcsönható fehérjék egy ún. PIP motívumon (PCNA interaction protein box) keresztül képesek kötni a PCNA-t. A PIP motívum konszenzus szekvenciája: Q-x-x-(h)-x-x-(a)-(a), ahol a (h) valamilyen hidrofób aminosav (L, I vagy M), míg az (a) aromás aminosavat jelöl (F, Y). Az x helyén bármilyen aminosav lehet. Azonban ismerünk számos PCNA-vel kölcsönható fehérjét (DNS polimeráz- ϵ , ciklin D) amelyek nem tartalmaznak PIP motívumot. Ezek a fehérjék egy ún. KA motívumot tartalmaznak, ami kevésbé konzervált és ezért szekvencia analízissel nehezen azonosítható.

A II. típusú AP endonukleázoknak két családja ismert. Az egyik család az Endonukleáz IV család, amelybe az *Escherichia coli* Endonukleáz IV és az élesztő Apn1 fehérje tartozik. A másik család az Exonukleáz III család, ahova az *E. coli* Exonukleáz III, az élesztő Apn2, és a humán Ape1 és Ape2 fehérjék tartoznak. Ezek közül a fehérjék közül az élesztőben az Apn1, emberben az Ape1 a fő AP endonukleáz. Ezekre a fehérjékre jellemző, hogy AP endonukleáz aktivitásuk a domináns. Ezzel ellentétben az élesztő Apn2 AP endonukleáz aktivitása gyenge, viszont erős 3'-5' exonukleáz aktivitása figyelhető meg, amelynek az *in vivo* szerepe ismeretlen.

A humán Ape2 egy újonnan felfedezett és kevésbé ismert tagja a II. típusú AP endonukleázoknak. Az Ape2 az élesztő Apn2 fehérjével külön alcsaládot képez a II. típusú AP endonukleázokon belül. Erre a csoportra jellemző, hogy az N-terminális katalitikus domén mellett tartalmaznak egy hosszú, C-terminális extenziót. Ez az

extenzió az Apn1 és Ape1 fehérjékből hiányzik. Ez a C-terminális rész tartalmazza az Apn2 fehérje PCNA kötő motívumát, amely a PCNA IDCL (interdomain connector loop) régiójával lép kölcsönhatásba. Ez a kölcsönhatás stimulálja az élesztő Apn2 3'-5' exonukleáz aktivitását, amiből feltételezhető, hogy a két fehérje *in vivo* együtt működik. Az Apn2 PIP motívumának mutációja a kölcsönhatást megszünteti.

A humán Ape2 fehérje a legújabban felfedezett és még nagyon kevésbé ismert tagja a II. típusú AP endonukleázoknak. Bakteriális expressziós rendszerben próbálták tisztítani, ezidáig sikertelenül. Egy részlegesen tisztított Ape2 preparátumról leírták, hogy gyenge AP endonukleáz aktivitással rendelkezik. Ugyanakkor nem bizonyították, hogy ez az aktivitás az Ape2 sajátja, valamint nem jellemezték egyéb aktivitásait sem. Az Ape2 N-terminálisán egy mitokondriális lokalizációs szignál található, valamint kimutatták, hogy a sejtmag mellett nagy mennyiségben található a mitokondriumokban is. Mivel a mitokondrium saját genommal (mtDNA) rendelkezik, feltételezhető, hogy az Ape2-nek a mitokondriális genom integritásának megőrzésében is szerepe lehet. A mitokondriumokban a mtDNA oxidatív károsodása a leggyakoribb, a normális metabolikus működés során folyamatosan keletkező, nagy mennyiségű reaktív oxigénradikálok miatt, amik folyamatosan károsítják a mtDNA-t a bázisok oxidálásával (pl. 8-oxo-guanin) és egyesszálú lánc-törések generálásával. Ezért joggal feltételezhető, hogy az Ape2 fehérjének az oxidatív mtDNA károsodások javításában kiemelt szerepe lehet. A mitokondriális lokalizáció jelenlétének ellenére az Ape2 főleg nukleáris lokalizációt mutat, amelyet a fehérje C-terminálisa határoz meg. Az Ape2 tartalmaz PCNA kötő motívumot, valamint kimutatták, hogy *in vivo* bizonyos esetekben egy komplexben található. Kimutatták, hogy az Ape2 hiányos egerek érésben levő T limfocitáinak sejtciklusában G2/M blokk figyelhető meg, valamint az Ape2 mRNA-ének expressziós maximuma az S fázisban található. Ezekből az adatokból egyértelműen az következtethető, hogy az Ape2 jelentős sejtmagi szerepet lát el a sejtciklus S fázisában, aminek az egyik lehetséges módja az új mtDNA szintézissel járó folyamatokban való részvétel. Az Ape2 *in vivo* jelentőségét tovább erősíti az Ape2 knock-out egéren megfigyelhető tulajdonságok: a növekedési rendellenességek, az érésben lévő limfociták sejtciklusában bekövetkező G2/M blokk, a vérképzés hibái. Annak a kérdésnek a megválaszolásához, hogy vajon ezeknek a hibáknak a hátterében milyen folyamatok húzódnak meg, szükség van az Ape2 fehérje enzimatis aktivitásainak jellemzésére.

Célkitűzések

Célul tűztük ki, hogy biokémiaailag jellemezzük a humán Ape2 fehérjét, és ezen keresztül vizsgáljuk a DNS reparációban betöltött szerepét.

Ennek során megvizsgáltuk, hogy az Ape2 rendelkezik-e a II. típusú AP endonukleázokra jellemző enzimaktivitásokkal, úgymint az AP endonukleáz, a 3'-foszfodiászteráz és 3'-5' exonukleáz aktivitás.

Célunk volt az *in vitro* vizsgálatok során meghatározott fő enzimatis aktivitás, a 3'-5' exonukleáz aktivitás további jellemzése és vizsgálata, amely megadhatja a választ arra a kérdésre, hogy mi az Ape2 *in vivo* funkciója.

Vizsgáltuk:

- a 3'-5' exonukleáz aktivitás szubsztrátspecificitását
- az Ape2 és a PCNA fehérje kölcsönhatása hogyan befolyásolja az Ape2 3'-5' exonukleáz aktivitását
- az Ape2 fehérje 3'-5' exonukleáz aktivitásának működését mismatch-et és helyes bázispárt tartalmazó 3' végen
- az Ape2 3'-5' exonukleáz aktivitása hogyan viselkedik azokban az esetekben, ha a szubsztrát DNS-en *in vivo* gyakran előforduló DNS sérülések találhatóak.
 - Vizsgáltuk az Ape2 3'-5' exonukleáz aktivitását olyan DNS szubsztráton, amelynek 3' visszahúzó végén egy dezoxi-uracilt helyeztünk el. Ebben a kísérleti elrendezésben a frissen szintetizálódó DNS lánc 3' végére beépült sérült nukleotid eltávolításának hatékonyságát vizsgáltuk.
 - Vizsgáltuk az Ape2 3'-5' exonukleáz aktivitását olyan DNS szubsztráton, amely a replikatív DNS polimeráz hibával szembeni mutagén működését modellezi. Ebben a kísérleti elrendezésben olyan szubsztrát DNS-t terveztünk használni, amely a 3' végén a templát szálon egy 8-oxo-guanint tartalmazott, vele szemben pedig egy adenint.

Eredmények és összefoglalás

Klónoztuk, expresszáltuk és homogenitásig tisztítottuk a humán Ape2 fehérjét. Ezáltal lehetőségünk nyílt vizsgálni a fehérje enzimatis aktivitásait, és annak *in vivo* funkcióit. Megállapítottuk, hogy az Ape2 mind a három, a II. típusú AP

endonukleázok családjára jellemző enzimaktivitással: az AP endonukleáz, a 3' foszfodiészteráz és 3'-5' exonukleáz aktivitással rendelkezik. Hogy bizonyítsuk, hogy ez az aktivitás az Ape2 fehérjétől származik készítettünk egy Ape2 pontmutánst (D277A), amely szekvenciahomológiák alapján feltételezhetően katalitikusan inaktív. Mivel ez a pontmutáns Ape2 fehérje nem mutatta a vad típusú Ape2-nél megfigyelt enzimaktivitásokat, ezért a vad típussal kapott aktivitások az Ape2 fehérjétől származtak. Ezek közül az aktivitások közül a 3'-5' exonukleáz aktivitást találtuk dominánsnak. Azért ezt az aktivitást vizsgáltuk tovább, mivel ennek lehet a legnagyobb jelentősége a sejtek számára. Megvizsgáltuk hogy hogyan változik az Ape2 3'-5' exonukleáz aktivitása különböző DNS szubsztrátokon. Megállapítottuk, hogy egyesszálú és 3' túlnyúló végű DNS szubsztráton nem működik az Ape2 3'-5' exonukleáz aktivitása, csak tompa véget és 3' visszahúzó véget tartalmazó DNS szubsztráton. Az Ape2 a II. típusú AP endonukleázok családjába tartozik, amely fehérjék a BER folyamataiban vesznek részt. Ezért megvizsgáltuk, hogy az Ape2-nek lehet-e szerepe a BER-ben, mint 3'-5' exonukleáz. A BER-ben olyan 3' visszahúzó végű DNS szubsztrát található, amely mellett 3' irányban egy bemetszés (nick) helyezkedik el. Megvizsgáltuk, hogy az Ape2 3'-5' exonukleáz aktivitását befolyásolja-e a 3' irányban található bemetszés vagy rés (gap) és a rés mérete. Eredményeink szerint az Ape2 aktivitása a bemetszést tartalmazó DNS szubsztráton felére csökken a szabad 3' visszahúzó véget tartalmazóhoz képest. Ugyanakkor a rés, és a rés hossza nincs hatással az Ape2 3'-5' exonukleáz aktivitására. Ennek a kísérletnek az alapján megállapíthatjuk, hogy az Ape2 3'-5' exonukleáz aktivitása, nem mutat preferenciát a BER-ra, ezért elképzelhető, hogy az Ape2 3'-5' exonukleáz aktivitása nem a BER-hoz kapcsolt, hanem más DNS reparációs úthoz.

3' visszahúzó véget találunk minden olyan helyen, ahol új DNS szintézise folyik. Ezeknek a szintézisének a központi szabályozó fehérjéje a PCNA. Ez a homotrimer gyűrű alakú molekula, mint egy kapocs csúszik a DNS-en és biztosítja a DNS szintézisben és javításban részt vevő fehérjéknek a felületet, hogy a DNS közelébe kerülhessenek. Ismert, hogy az Ape2 és a PCNA kölcsönhatásba lép egymással, ezért megvizsgáltuk, hogy ez a kölcsönhatás megváltoztatja-e az Ape2 enzimaktivitását. Kísérleteink eredménye szerint az PCNA drámai módon megnöveli az Ape2 3'-5' exonukleáz aktivitását. Tsuchimoto és munkatársainak közleménye tartalmazta az Ape2 szekvenciájában található potenciális PCNA kötő helyet. Ezért pontmutánst készítettünk erre a PCNA kötő helyre (Y396A F397A)

azért, hogy bizonyítsuk, hogy az aktivitásnövekedést a PCNA-vel való kölcsönhatás okozta, valamint, hogy ez a PCNA kötő hely funkcionális, vagyis ténylegesen ez a szekvenciamotívum felelős az Ape2 és a PCNA kölcsönhatásáért. Kísérletünk azt a meglepő eredményt adta, hogy ezzel a pontmutációval nem voltunk képesek megszüntetni az Ape2 és a PCNA közötti kölcsönhatást. Az Ape2-t részletes szekvenenciaanalízisnek vetettük alá, amely során sikerült két további, lehetséges PCNA kötő motívumot izolálni. Elkészítettük a lehetséges PCNA kötő motívumokban a helyekben pontmutáns Ape2 fehérjéket (F492A Y493A és F511A F512A). Ezek a pontmutánsok mindegyike képes volt a PCNA aktivitást stimuláló hatását megszüntetni, ellentétben a korábban publikált motívummal. A fenti kísérleteknek az alapján bizonyítást nyert, hogy az Ape2 és a PCNA fehérje közötti kölcsönhatás felelős az Ape2 3'-5' exonukleáz aktivitásának megnövekedéséért, valamint feltételezhető, hogy az Ape2 C-terminálisán azonosított két PCNA kötő motívum felelős a PCNA megkötéséért, valamint ezek a motívumok feltehetően egymással kooperatív módon működnek.

Megvizsgáltuk, hogy a szabad 3' végen található mismatch-ek milyen hatást gyakorolnak az Ape2 3'-5' exonukleáz aktivitására. Elkészítettük mind a 16 lehetséges DNS szubsztrátot, amelyek a 3' végen mind a 16 lehetséges bázispárosodást tartalmazzák. Ezeknek a szubsztrátoknak a vizsgálatával sikerült kimutatni, hogy az Ape2 fehérjének egy proofreader szerű 3'-5' exonukleáz aktivitása van, amely tulajdonság alapján feltételezhető, hogy az Ape2 *in vivo* valamilyen DNS szintézis során, egy DNS polimeráz proofreader alegysége lehet. Számos DNS polimeráz ismert, amelynek nincs saját 3'-5' exonukleáz aktivitása.

Ezek közül az egyik legkézenfekvőbb lehetne a DNS polimeráz- β , a BER DNS polimeráza. Korábbi vizsgálataink azonban arra engednek következtetni, hogy az Ape2 nem a BER-ban működik, mint 3'-5' exonukleáz, ezért valószínűleg nem a DNS polimeráz- β proofreadere. A TLS DNS polimerázok sem rendelkeznek önálló 3'-5' exonukleáz aktivitással, viszont alacsony pontosságuk miatt könnyen elképzelhető, hogy *in vivo* olyan fehérjekomplexek részei, amelyben proofreader is található. Hogy az Ape2 fehérje ez a feltételezett proofreader vagy nem, arra a közeljövőben további kísérleteket tervezünk végezni.

A DNS szintézis során azonban nem csak mismatchek jelenhetnek meg a szabad 3' végen, hanem olyan 3' végi bázispárok is, amelyeken ugyan a bázispárosodás tökéletes, de az egyik bázis károsodott. Ezért megvizsgáltunk néhány

modell DNS szubsztrátot, amelyeken a 3' végen valamilyen DNS sérülés helyezkedett el.

Az egyik esetben a 3' végen a templát adeninnel szemben nem egy timint, hanem egy dezoxi-uracilt építettünk be. Ez a hiba *in vivo* is előfordul, valamint számos kemoterápiás szer hatásmechanizmusa alapul azon, hogy a gyorsan osztódó sejtek DNS-ébe minél nagyobb mennyiségű dezoxi-uracilt építsenek be. Az Ape2 specificitást mutatott a dezoxi-uracilt tartalmazó DNS szubsztrátra, mivel nyolcszor hatékonyabban hasította le a 3' végről a dezoxi-uracilt, mint a kontrollként használt timint. Ezért elképzelhető, hogy az uracil beépülésen alapuló kemoterápiás szerek esetében az Ape2, a mutagén hatás szupresszáálásában és így a kemoterápia hatékonyságának csökkentésében vehet részt.

A másik modell szubsztrátunk egy *in vivo* nagy gyakorisággal előforduló, erősen mutagén DNS károsodással foglalkozik. A 8-oxoG az egyik leggyakoribb spontán előforduló DNS hiba. A replikációs villában is gyakran megtalálható, ahol a replikatív DNS polimeráz csak kis hatékonysággal képes átírni. Azonban amikor ez az átírás megtörténik, a replikatív DNS polimeráz a 8-oxoG-nal szemben az esetek 90%-ában adenint épít, nem a helyes citozint. A kettősszálú DNS-ben ezután a 8-oxoG kerül kijavításra így a GC bázispárból egy TA bázispár keletkezik (traszverzió). Ennek a működésnek a megakadályozása nagymértékben csökkentheti a replikáció során keletkező transzverziókat így segít a genom stabilitásának megőrzésében. A modell DNS szubsztrátunk esetében az Ape2 3'-5' exonukleáz aktivitása révén a 8-oxoG-nal szembeni adenint tízszer hatékonyabban távolítja el, mint a kontrollként használt citozint. Ezek alapján feltételezhető, hogy az Ape2 *in vivo* erősen antimutagén hatású.

Munkánk során klónoztuk expresszáltattuk és homogenitásig tisztítottuk az Ape2 fehérjét. Kimutattuk, hogy AP endonukleáz, 3' foszfodiészteráz és 3'-5' exonukleáz aktivitással rendelkezik. Ezek közül a 3'-5' exonukleáz aktivitás a domináns. Kísérleteink alapján azt feltételezzük, hogy az Ape2 fehérje *in vivo* egy proofreader 3'-5' exonukleáz, amely a PCNA-hez kapcsolódva antimutagén működése révén őrzi a genomban található információ épségét.

Köszönetnyilvánítás

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

Dr. Haracska Lajosnak, munkacsoportunk vezetőjének, aki az itt összefoglalt munkához a szellemi és anyagi támogatást nyújtotta

Szukacsov Valériának, feleségemnek, aki a munkával járó megpróbáltatásokat elviselte, munkámban mellettem állt és támogatott,

Dr. Unk Ildikónak, aki az itt összefoglalt munka alapjait az élesztő Apn2 vizsgálatával megteremtette, valamint hasznos tanácsaival segítette munkámat,

A Mutáció és Karcinogenezis labor összes dolgozójának, a munkához nyújtott kisebb, nagyobb segítségért.

Külön köszönettel tartozok **Illésné Kovács Katalinnak**, asszisztensünknek és **Nótári Péterné „Icusnak”**, akiknek az áldozatos munkája nagymértékben hozzájárult a dolgozat elkészüléséhez.

Közlemények jegyzéke

Az értekezés témakörébe tartozó közlemények

1. **Burkovics P**, Szukacsov V, Unk I, Haracska L
Human Ape2 protein has a 3'-5' exonuclease activity that acts preferentially on mismatched base pairs.
Nucleic Acids Res. 2006 May 10;34(9):2508-15
2. **Burkovics P**, Szukacsov V, Unk I, Haracska L
Human Ape2 acts with the PCNA as an antimutagenic 3'-5' repair exonuclease
Nucleic Acids Res. Manuscript

Egyéb közlemények

1. Kortvely E, **Burkovics P**, Varszegi Sz, Gulya K
Cloning and Characterization of the Rat Importin 9: Implication of its Neuronal Function
Molecular Brain Research, 139 (2005) 103-114)

Előadások

1. **Burkovics P**, Unk I, Haracska L
Straub-Napok, Szeged, 2004 December 7-9
Novel activities of the base excision repair protein Ape2
2. **Burkovics P**, Unk I, Haracska L
VI. Magyar genetikai Kongresszus, XIII: Sejt- és Fejlődésbiológiai Napok, Eger, 2005.04.10-12
Az élesztő és humán II. típusú AP endonukleázok új funkciója a DNS reparációban

Poszterek

1. **Burkovics P**, Kortvely E, Gulya K
X. Sejt- és fejlődésbiológiai napok, Siófok, 2002.03.27-29
A patkány importin 9 génjének izolálása és részleges jellemzése
2. Szukacsov V, **Burkovics P**, Subramanian B, Unk I, Haracska L
VI. Magyar genetikai Kongresszus, XIII: Sejt- és Fejlődésbiológiai Napok, Eger, 2005.04.10-12
Az élesztő és humán PCNA ubiquitin és SUMO módosításainak szerepe a DNS reparációban
3. Szukacsov V, **Burkovics P**, Pintér L, Unk I, Haracska L
A Magyar Biokémiai Egyesület 2006. évi Vándorgyűlése Pécs, 2006.08.30-09. 02

A sumoilált PCNA szerepe a DNS replikációban és reparációban
Nyilatkozat

Alulírott, Burkovics Péter doktorandusz témavezetője, igazolom, hogy a hallgató lényegesen hozzájárult a Ph.D. dolgozat alapjául szolgáló, már elfogadott és publikálás alatt lévő cikkek létrejöttéhez. Burkovics Péter klónozte, túltermeltette és tisztította a humán Ape2 fehérjét, jellemezte enzimatis aktivitásait számos különböző DNS szubsztráton. A kéziratok szerkesztésében és megírásában szintén aktívan részt vett.

Szeged, 2006. október 30.

Dr. Haracska Lajos
témavezető