

SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR
ORVOSI BIOLÓGIAI INTÉZET

ÉS

MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA
ANYAI HATÁS ÉS EMBRIÓGENEZIS KUTATÓCSOPORT

Az α -tubulin⁴ a hosszú interpoláris mikrotubulusok gyors
képződéséhez és a leánycentroszómák szétválásához szükséges a
Drosophila embriógenézis kezdetén

Ph.D. értekezés tézisek

Venkei Zsolt

Szakvezető: Szabad János

SZEGED

2006.

BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

Mi, emberek bármely szemünk előtt zajló folyamatot érzékelve ösztönösen a kezdetek felé fordulunk. Talán az az elgondolás irányít minket, hogy ha egy múltban elkezdődött eseménysor legkorábbi mozzanatait pontosan ismerjük, lehetőségünk van a jelen eseményeinek alaposabb megértésére, illetve ami még sokkal kecsgetőbb, megjósolhatjuk a folyamat jövőbeli kimenetelét. Az Újszövetséget kanonizáló pápák megérezhették a bennünk élő ösztönt: az igényt a kezdetek feltárására. Nem véletlenül kaphatott nagy hangsúlyt a Megváltó földi életéből a szeplőtelen fogantatás, illetve említettek számos részletet Jézus születésének körülményeiből mind a négy evangéliumban. Az első napok eseményeiből fontosnak tartják tudatni velünk még azt az apró mozzanatot is, hogy a menekülő Szent Család bekötötte a tevék lábát, hogy meg ne halják őket, ugyanakkor Jézus gyermekkoráról, és fiatalságáról mindössze egyetlen történetet tartottak említésre érdemesnek.

Hasonló legtöbbünk elvárása a természetben lezajló folyamatokat leíró munkákkal kapcsolatban is. Ha az univerzumból, a Földről, vagy a földi életről hallunk, a kezdeti események tesznek minket igazán kíváncsivá. Nincs ez másképpen az egyedfejlődést kutatókkal sem. Valószínűleg elsősorban az eredendő kíváncsiságnak köszönhető, hogy manapság a megtermékenyülés pillanatát, valamint az azt közvetlenül követő eseménysort - az embriógenézis korai történéseit - is sokan kutatják. Ma már részleteiben is jól ismert, hogy miként talál egymásra, és egyesül a két ivarsejt. Egyre finomodó modellek születnek a megtermékenyült petében a szimmetria viszonyok kialakulásáról, az anyai hatású fehérjék szerepéről, a petesejt-embrió transzformáció mozzanatairól.

A megtermékenyülés utáni korai események megismerésére elterjedten használt modellrendszerek egyike az ecetmuslica, a *Drosophila melanogaster* petéje, embriója. A petében, az anya testén kívül, kényelmesen vizsgálhatók a korai embriógenézis morfológiai és citológiai eseményei. A *Drosophila*

kutatások hagyományosan erős genetikai háttere, a teljes genom DNS szekvenciájának ismeretével és a molekuláris genetika eszköztárával kiegészülve kecsesítő távlatokat nyit. A rendszer kínálja lehetőségek felismerése, a domináns nőtény steril mutációk rendszere kiváló lehetőséget kínál arra, hogy megismerjük az egyedfejlődés legkorábbi eseményeit.

Ph.D. munkám kezdetén célul tűztük ki, hogy a *kavar* gént azonosító *Kavar^D* domináns nőtény-steril mutációkból kiindulva, megismerjük a sejtváznak a korai embrióban betöltött szerepét. A domináns negatív *Kavar^D* mutációk gátolják a megtermékenyülés utáni első mitotikus orsók kialakulását, funkcióját, és az embriók blasztoderma stádium előtti pusztulásához vezetnek. Milyen, a korai embrió osztódási orsóinak kialakulásához szükséges specifikus sejtvázfunkciót azonosítanak a *Kavad^D* mutációk? A lehetséges válaszok szerteágazóak, hiszen a korai *Drosophila* embrióban lezajló első 13 magosztódás több szempontból is szembetűnően eltér a blasztoderma stádium utáni osztódásoktól. (1) A magosztódásokat nem követi citokinézis: a fiatal embrió egy szincicium. (2) Az első 13 osztódási ciklus kivételesen gyors, hosszuk csupán percekben mérhető, interfázisaiknak csak S-szakasza van, a G₁ és G₂ szakaszok hiányoznak. (3) Az első osztódások a szincicium belsejében, mélyen a sejthártya alatt történnek. Az egymagú testi sejtek osztódásával ellentétben, lefolyásukban nem játszanak szerepet sem az asztrális mikrotubulusok, sem a szubkortikális aktin hálózat. (4) A sejtmagvak az osztódások alatt folyamatosan vándorolnak a pete kérgi része felé. (5) A sejtmagvak mérete osztódásról-osztódásra csökken (Venkei és szerzőtársai 2006).

A fentieket figyelembe véve megválaszolásra érdemes kérdéseknek találtuk, hogy (i) mely fehérjét kódolja a *kavar* gént, (ii) és mely, a korai embrionális osztódásokhoz szükséges sejtvázfunkció köthető a géntermékhez? A gén azonosítása illetve a vad típusú, és a mutáns géntermékek sejtbiológia,

molekuláris genetikai, biokémiai és szerkezeti összehasonlítása révén reméltük, hogy árnyaltabb képet kapunk a sejtvázkorai embrióban betöltött szerepéről.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Kísérleteink körülményei a következők voltak:

- A muslica vonalak fenntartását, a keresztezéseket, a peték gyűjtését, ill. az élő embriók injektálását, mikroszkópos vizsgálatát standard körülmények között, 25°C-on végeztük.
- A DNS izolálás, λ -fág génkönyvtár szűrés, klónozás, PCR, DNS elválasztás és szekvenálás során standard protokollokat követtünk.
- Az immuncitokémiai vizsgálatokhoz a petékről rövid NaOCl kezeléssel, vagy manuálisan választottuk le a choriont, majd heptán-metanolos kezeléssel távolítottuk el a vitellin membránt, és metanollal fixáltuk az embriókat. A harmadik stádiumú lárvák kiboncolt agyát 4%-os formaldehiddel fixáltuk. A vizsgálni kívánt sejtvázkötőket monoklonális anti- α -tubulin, anti-centroszomin és α -tubulin⁴ specifikus ellenanyagokkal detektáltuk. A monoklonális anti- α -tubulin ellenanyag felismeri a konstitutívan expresszáldó α -tubulin¹ és α -tubulin³ izoformákat, ám nem ismeri fel az anyai hatású α -tubulin⁴-et. Az α -tubulin⁴ felismerésére polipeptid típusú poliklonális ellenanyagot készítettünk.
- Az injektált embriókban a mikrotubulusokat zölden fluoreszkáló fehérjével kapcsolt α -tubulin¹ világította ki. Az injekciót követő mikrotubulus átrendeződéseket konfokális mikroszkóppal készített optikai metszetek sorozatán át időben követtük (Zeiss LSM400 és Olympus VS1000).
- A különböző genotípusú embriókból származó fehérje kivonatok összetevőit 10%-os denaturáló polyakrilamid gélben választottuk el. Az 51 kDa molekulásúlyú α -tubulin⁴, és az 50 kDa-os α -tubulin¹ és α -tubulin³ molekulák a gélben két egymástól jól elkülönült diszkrét csíkot képeztek. A Western-blot

kísérletekben az immuncitokémiai kísérletekben is használt elsődleges ellenanyagokat alkalmaztuk. A különböző α -tubulin izoformák egyidejű detektálására más-más fluorokrómmal kapcsolt másodlagos ellenanyagokat használtunk. A membránon a fluoreszcencia intenzitást Typhoon 8600 készülékkel detektáltuk.

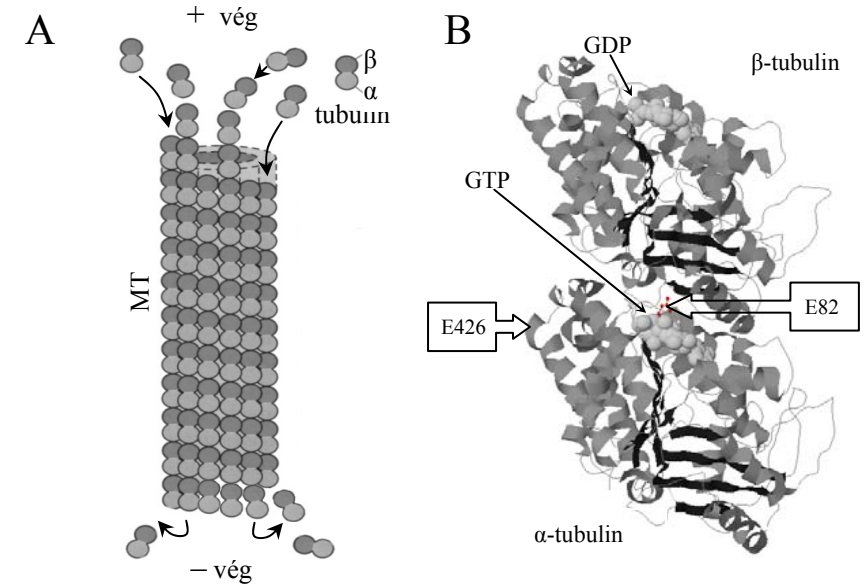
- Az embriókból származó tubulin *in vitro* polimerizációját részben korábban leírt protokoll alapján, részben a kutatócsoportunk által kifejlesztett *in vitro* rendszerben, Taxol jelenlétében illetve hiányában, fluorokrómmal jelölt szarvasmarha tubulin hozzáadásával végeztük. A polimerizálódott mikrotubulusok hosszát fluoreszcens mikroszkóppal határoztuk meg.

- A tubulin dimer szerkezetét a Ras-Top molekulamodellező programmal elemeztük (forrás: Protein Data Base, <http://www.rcsb.org/pdb>).

EREDMÉNYEK

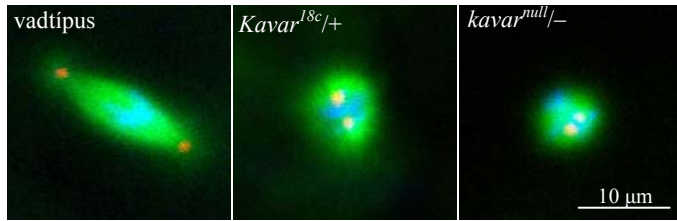
Kutatásunk eredményei a következők (Venkei és Szabad 2005; Venkei és szerzőtársai 2006 alapján).

1. Pozicionális klónozással azonosítottuk a *kavar* (α Tub67C) gént, mely az anyai hatású α -tubulin⁴ fehérjét kódolója.
2. Meghatároztuk a *Kavar^D* domináns mutáns allélok, valamint egy *kavar^{null}* allél molekuláris természetét: kiderítettük, hogy a *Kavar^D* domináns mutációk egy-egy bázispár csere nyomán képződtek, és egy-egy aminosav cseréjét okozzák. A *Kavar^{18c}* mutáció E82K, a *Kavar^{21g}* mutációk E426K aminosav cserékhez vezetnek a 462 aminosavból álló molekulában. Az E82 a GTP kötésében vesz részt a molekula belsejében, E426 pedig az elsődleges motor kötő hely része az α -tubulin⁴ molekula felszínén (1. Ábra.).



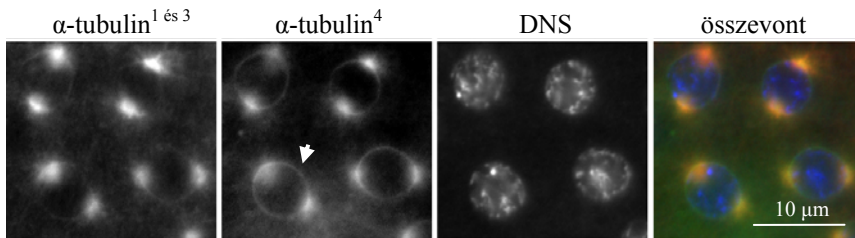
1 ábra. A mikrotubulus (MT) felépítése (A) és egy tubulin dimer térszerkezete (B). A *Kavar^{18c}* mutáció E82K aminosav cseréhez vezet a GTP kötő motívumban. A *Kavar^{21g}* mutáció az E426K aminosav cserét eredményezi a tubulin molekula felszínén, a motorkötő motívumban.

3. A *Kavar^{18c}* és a *kavar^{null}* allélok konfokális mikroszkóppal végzett citológiai jellemzésével rámutatunk, hogy az α -tubulin⁴ fehérje esszenciális a legelső osztódási orsó kialakításához, illetve a leánycentroszómák szétválásához, a folyamathoz szükséges hosszú mikrotubulusok kialakulásához (2. Ábra).
4. A *Kavar¹⁸*-kódolt, E82K- α -tubulin⁴ tartalmazó citoplazma injekciója megmutatta, hogy az α -tubulin⁴ a leánycentroszómák szétválásához szükséges a korai osztódások inter- és profázisában.
5. Az E82K- α -tubulin⁴ fehérje ektopikus expressziója nem befolyásolja a sejtek életét, jelezve, hogy a sejtekben nincs szükség α -tubulin⁴-re.



2. ábra Az első osztódási orsó vadtípusú nőstények megtermékenyített petéjében, és az orsó helyett kialakuló tubulin-DNS rög a *Kavar*^{18c/+} és *kavar*^{null/-} nőstények megtermékenyített petéiben. A mutáns nőstények megtermékenyített petéiben a replikálódott centroszómák képtelenek eltávolodni egymástól. Az ábrán a tubulin zöld, a centroszómák piros, a DNS kék.

6. Ellenanyagot készítettünk az α -tubulin⁴ izoformára, mellyel kimutattuk a fehérje felhalmozódását a maghártya körüli interpoláris mikrotubulusokban a korai osztódások folyamán (3. Ábra).



3. ábra Az tubulin¹ és α -tubulin³ valamint az anyai hatású α -tubulin⁴ izoformák eloszlása a tizenegyedik magosztódás profázisában. A nyíl az α -tubulin⁴ izoforma felhalmozódását mutatja a maghártya körbeölelő mikrotubulusokban. (α -tubulin^{1 és 3} piros, α -tubulin⁴ zöld, DNS kék.)

7. Kimutattuk, hogy az E82K- α -tubulin⁴ fehérje *in vivo* és *in vitro* is képes beépülni a mikrotubulusokba.

8. *In vitro* tubulin polimerizációs rendszerben kimutattuk, hogy az α -tubulin⁴ ahhoz szükséges, hogy a mikrotubulusok gyorsan növekedjenek.

KÖVETKEZTETÉSEK

A kísérleti eredményekből levont következtetések a következők:

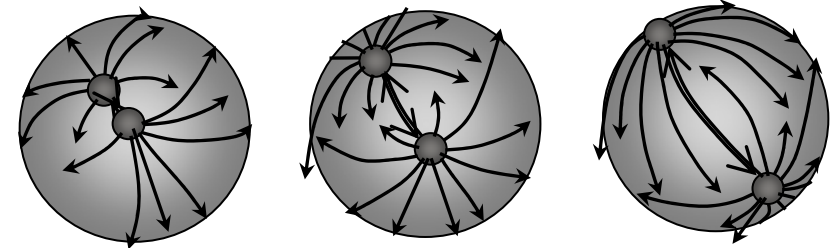
1. A *kavar* gén az anyai hatású α -tubulin⁴ fehérjét kódolja. A fehérje funkcióját a korábban leírt hipomorf és domináns allélokkal kapcsolatos fenotípusok alapján a meiózisban, a spermium aszter kialakításában, a korai mitotikus osztódásokban, valamint az központi és a perifériás idegrendszer kialakulásában mutatták ki (Matthews és szerzőtársai 1989, Matthews és szerzőtársai 1993, Máthé és szerzőtársai 1998). A molekulárisan nem jellemzett hipomorf (gyenge) recesszív allélokra homo- és/vagy hemizigóta nőstények petéiben megfigyelt sokszínű mitotikus defektus alapján a kódoló *aTub67C* gén szerteágazó funkcióját sugallták. A mutációkkal kapcsolatos rendellenességek nem voltak a mitózis valamely jól definiált szakaszához köthetők. Az általunk azonosított *kavar*^{null} allélt hemizigóta állapotban hordozó (*kavar*^{null/-}) nőstények megtermékenyített petéiben (az α -tubulin⁴ teljes hiányában) sosem alakul ki sem a spermium aszter, sem pedig az első mitotikus orsó. Bár a petékben bőven van α -tubulin¹ és α -tubulin³ (lévén, hogy az α -tubulin⁴ a pete összes α -tubulinjának csak mintegy 20 százalékát teszi ki), α -tubulin⁴ hiányában - amint leírtuk - csak rövid mikrotubulusokból álló pamacs képződik, benne két, az egymás közvetlen közelében rekedt leánycentroszóma (Venkei és Szabad 2005). A *kavar*^{null/-} nőstények petéiben lévő mikrotubulus pamacs kétféleképpen alakulhat ki: (1) a leánycentroszómák nem képesek szétválni a profázis végéig, (2) vagy a már kialakult mitotikus orsó összezuhan. A *kavar*^{null/-} nőstények petéiben látott mutáns fenotípusa alapján kijelenthető, hogy az α -tubulin⁴ a leánycentroszómák szétválasztásához szükséges.
2. A *Kavar*^{18c/+} (vagy *Kavar*^{18c/-}) nőstények petéiben a *kavar*^{null/-} esetben leírthoz roppant hasonló mikrotubulus pamacs alakul ki, jelezve, hogy *Kavar*^{18c} erős domináns negatív mutáció.
3. A vadtípusú embriókba injektált, *Kavar*^{18c/-} nőstény petéjéből származó citoplazma gátolta a leánycentroszómák szétválását interfázisban, ám hatástalan

a már kialakult osztódási orsókra, jelezve, hogy az α -tubulin⁴ a korai osztódások alatt a centroszómák interfázisban történő szétválásához szükséges, és nem okozza az orsók összezuhanását. Különös, hogy a *Kavar*^{18c/-} eredetű citoplazmának nem volt toxikus hatása, ha az injektált embrió sejtmagjai már a pete kérgi részében voltak, a cellularizáció előtt. A citoplazma injekció kísérletek bizonyították, hogy az osztódások előrehaladtával a *Kavar*^{18c} által azonosított mikrotubulus funkció szerepe folyamatosan csökken (Venkei és szerzőtársai 2006).

4. A *Kavar*^{18c}-kódolt E82K- α -tubulin⁴ ektopikus expressziója bizonyította, hogy a mutáns fehérje kizárólag a korai embrióban toxikus, bármilyen sejttípusra ártalmatlan, vagyis α -tubulin⁴-re csak a korai embriogenezis során van szükség (Venkei és szerzőtársai 2006).

5. α -tubulin⁴ specifikus ellenanyaggal kimutattuk az α -tubulin⁴ felhalmozódását a sejtmaghártya körüli interpoláris mikrotubulusokban a korai osztódások alatt (Venkei és szerzőtársai 2006). A Cytrynbaum és szerzőtársai (2003) által leírt modell szerint a sejtmaghártya mentén növekvő mikrotubulusok kezdik szétoltni a leánycentroszómákat a sejtmaghártya felszínén. A pete kérgi részében a feladatot a mikrofilament-hálózathoz kapcsolódó dineinek veszik át. Az általunk kidolgozott modell szerint az első magosztódások során, amikor a dineineknek nincs szerepe a leánycentroszómák elkülönítésében, a leánycentroszómák átellenes pólusba tolását a sejtmaghártya mentén egyedül az interpoláris mikrotubulusok végzik. Az α -tubulin⁴ teszi alkalmassá arra a mikrotubulusokat, hogy a sejtmaghártya mentén görbüljenek. Talán azért is nagyok a citoplazma mélyén levő sejtmagvak, hogy az interpoláris mikrotubulusok követhessék a sejtmaghártya görbületét, ne törjenek el. A nagy (kb. 10 μ m) magátmérő hosszú utat (kb. 15 μ m), hosszú interpoláris mikrotubulusok képződését feltételezi (Venkei és szerzőtársai 2006). Minthogy a magosztódások nyolcpercenként követik egymást (amelyből négy perc esik az

osztódásra, négy az interfázisra), az interpoláris mikrotubulusoknak gyorsan kell növekedniük (4. Ábra)



4. ábra. Modell a leánycentroszómák szétválására és vándorlására a korai magosztódások során a muslica embrióban. A centroszómák közt növekvő mikrotubulusok (az interpoláris mikrotubulusok) tolóerőt fejtenek ki a szemközti centroszómára. Az α -tubulin⁴-et tartalmazó mikrotubulusok a maghártyára görbülve növekednek, távolítják egymástól a centroszómákat. A maghártyához kapcsolódott dineinek (az ábrán nincsenek feltüntetve) kapcsolatot teremtenek a közeli mikrotubulusokkal, és a kezdetben asszimertikus aszter mikrotubulusai mentén vándorolva a centroszómákat a nyilakkal jelölt irányba húzzák. Amint a centroszómák a mag ellentétes pólusába érkeznek, az interpoláris mikrotubulusok képtelenek tovább követni a maghártya görbületét, elhajlanak a maghártya felületétől, következésképpen a centroszómákra kifejtett tolóerejük megszűnik. Egyidejűleg a centroszómák szimmetrikus mikrotubulus asztereket növesztenek, amelyek mentén a centroszómákra ható húzóerők kiegyenlítik egymást.

6. A *Kavar*^{18c}-kódolt E82K- α -tubulin⁴ molekulák *in vitro* és *in vivo* is beépülnek a mikrotubulusokba. Az ép α -tubulin⁴ 82. helyén glutaminsav⁻ van, ami egy Mg²⁺-on át annak a GTP molekulának a megtartásában vesz részt (további aminosav oldalláncokkal), amely GTP az α -tubulinok strukturális alkotója. Az E82K- α -tubulin⁴-ben a glutaminsav⁸² helyén lizin⁺ van, ami miatt a GTP kötés képessége csökken (Menéndez és szerzőtársai 2003), ami miatt a mikrotubulusok instabilakká válnak, szétesenek.

7. Az E82K- α -tubulin⁴ mikrotubulus destabilizáló hatását taxollal némileg kompenzálni lehet (Venkei és szerzőtársai 2006).

8. *In vitro* tubulin polimerizációs rendszerben, ha elegendő idő áll rendelkezésre, ugyanolyan hosszúságú mikrotubulusok képződnek, függetlenül az α -tubulin⁴ jelenlététől, vagy hiányától, jelezve, hogy az α -tubulin⁴ nem a hosszú, hanem a gyors mikrotubulus képződéshez szükséges (Venkei és szerzőtársai 2006). A különbség az *in vitro* és az *in vivo* körülmények között az, hogy az embriogenezis korai eseményeit egy olyan ciklin/ciklin-függő-kináz rendszer szabályozza, amely megszabja a mikrotubulusok képződéséhez rendelkezésre álló időt - ami nagyjából négy perc. (Ji és szerzőtársai 2004, Tadros és Lipshitz 2005). Mivel α -tubulin⁴ hiányában a rendelkezésre álló idő nem elég ahhoz, hogy hosszú mikrotubulusok képződjenek, érthető, hogy a *kavar*^{null}/- nőtények petéiben csak rövid mikrotubulusok képződnek.

Összefoglalva: kutatásaink azt mutatták meg, hogy a gondos *Drosophila* anyák azért tesznek α -tubulin⁴ fehérjét petéik citoplazmájába, hogy embrióikban az α -tubulin⁴ tartalmú interpoláris mikrotubulusok gyorsan növekedhessenek, és a sejtmaghártyához tapadva „menetrendszerűen” különítsék el a centroszómákat.

IRODALOM

Cytrynbaum, E. N., Scholey, J. M. and Mogilner, A., A force balance model of early spindle pole separation in *Drosophila* embryos. *Biophys. J.* **84**, 757-769, 2003.

Ji, J. Y., Squirrell, J. M. and Schubiger, G., Both cyclin B levels and DNA-replication checkpoint control the early embryonic mitoses in *Drosophila*. *Development* **131**, 401-411, 2004.

Matthews, K. A., Miller, D. F. and Kaufman, T. C., Developmental distribution of RNA and protein products of the *Drosophila* alpha-tubulin gene family. *Dev. Biol.* **132**, 45-61, 1989.

Matthews, K. A., Rees, D. and Kaufman, T. C., A functionally specialized alpha-tubulin is required for oocyte meiosis and cleavage mitoses in *Drosophila*. *Development* **117**, 977-997, 1993.

Máthé, E., Boros, I., Josvay, K., Li, K., Puro, J., Kaufman, T. C. and Szabad, J., The Tomaj mutant alleles of *α Tubulin67C* reveal a requirement for the encoded maternal specific tubulin isoform in the sperm aster, the cleavage spindle apparatus and neurogenesis during embryonic development in *Drosophila*. *J. Cell Sci.* **111**, 887-896, 1998.

Menéndez, M., Rivas, G., Diaz, J. F. and Andreu, J. M., Control of the structural stability of the tubulin dimer by one high affinity bound magnesium ion at nucleotide N-site. *J. Biol. Chem.* **273**, 167-176, 1998.

Tadros, W. and Lipshitz, H. D., Setting the stage for development: mRNA translation and stability during oocyte maturation and egg activation in *Drosophila*. *Dev. Dyn.* **232**, 593-608, 2005.

Venkei, Zs. and Szabad, J., The *Kavar*^D dominant female-sterile mutations of *Drosophila* reveal role of the maternally provided α -tubulin4 isoform in cleavage spindle maintenance and elongation. *Molecular Genetics and Genomics* **273**, 283-289, 2005.

Venkei, Z., Gáspár, I., Tóth, G. and Szabad, J., α -tubulin⁴ is essential for rapid formation of lengthy interpolar microtubules to push apart the daughter centrosomes along the nuclear perimeter during early *Drosophila* embryogenesis. *J Cell Science*, (DOI 03039) 2006. Accepted for publication

AZ ÉRTEKEZÉS PILLÉRJEIKÉNT SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK

Venkei Zsolt, Gáspár Imre és Szabad János, Pályák és motorok a sejtsztódásban. Természet Világa **6**, 247-250, 2005.

Venkei, Zs. and Szabad, J., The *Kavar^D* dominant female-sterile mutations of *Drosophila* reveal role of the maternally provided α -tubulin4 isoform in cleavage spindle maintenance and elongation. *Molecular Genetics and Genomics* **273**, 283-289, 2005. IF: 2,371

Venkei, Z., Gáspár, I., Tóth, G. and Szabad, J., α -tubulin⁴ is essential for rapid formation of lengthy interpolar microtubules to push apart the daughter centrosomes along the nuclear perimeter during early *Drosophila* embryogenesis. *J Cell Science*, 2006. Accepted for publication. DOI 03039 IF: 6,910.

ELŐADÁSOK KONFERENCIÁKON

Venkei Zsolt, Belec István és Szabad János, Mi mindent tanultunk a mikrotubulusokról a *Kavar^D* mutációk tüktében?

V. Magyar Genetikai Kongresszus. Siófok, 2003. április 13-15.

Venkei Zsolt és Szabad János, Mi mindent tanultunk a mikrotubulusokról a *Kavar^D* mutációk tükrében?

I. Magyarországi Genetikai Intézetek Találkozója, Szeged, 2003. szeptember 5.

Gáspár Imre, Venkei Zsolt és Szabad János, Hogyan függ a mikrotubulusok hossza az anyai eredetű α -tubulintól? A méret a lényeg?

VI. Magyar Genetikai Kongresszus, XIII. Sejt- és Fejlődésbiológiai Napok. Eger, 2005. április 10-12.

Szabad János, Gáspár Imre és Venkei Zsolt, Miért tesznek a muslica nőstények anyai eredetű α -tubulint petéikbe?

VI. Magyar Genetikai Kongresszus, XIII. Sejt- és Fejlődésbiológiai Napok. Eger, 2005. április 10-12.

Venkei Zsolt, Gáspár Imre és Szabad János, Mikrotubulusok az osztódási orsóban: váz, pálya és erő kifejtés.

VI. Magyar Genetikai Kongresszus, XIII. Sejt- és Fejlődésbiológiai Napok. Eger, 2005. április 10-12.

Venkei Zsolt, Gáspár Imre és Szabad János, *Drosophila* mothers supply the egg cytoplasm with α -tubulin4 to ensure the assembly of long microtubules.

19th European *Drosophila* Research Conference. Eger, 2005. augusztus 31-szeptember 3.

POSZTEREK

Venkei Zsolt, Szabad János, Mi mindent tanultunk a sejt-váz szerveződéséről a *Drosophila Kavar^{18c}* mutációjának tüktében?

X. Sejt- és Fejlődésbiológiai Napok. Siófok, 2002. március 27-29.

Venkei Zsolt, Bálint Kamill, Gáspár Imre, Erdélyi Miklós, Jordi Casanova és Szabad János, A dominant female-sterile mutation in the maternal α -tubulin gene of *Drosophila* reveals novel microtubule associated functions in egg cytoplasm and in embryogenesis.

EMBO/FEBS Workshop: Frontiers in cytoskeleton research, Gosau (Ausztria), 2003. szeptember 13-18.

Venkei Zsolt, Gáspár Imre és Szabad János, The maternally provided α -tubulin isoform ensure the assembly of long microtubules in early *Drosophila* embryos.

FEBS Course on Advanced Light Microscopy and 5th International Meeting of European Light Microscopy Initiative, Semmerlin (Ausztria), 2005. május 31-június 3.

Venkei Zsolt, Gáspár Imre és Szabad János, The maternally provided α -tubulin isoform ensure the assembly of long microtubules in early Drosophila embryos. EMBO Practical Course on Microinjection and detection of probes in living cells. Heidelberg, 2005. június 26- július 2.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálával tartozom témavezetőmnek, dr. Szabad Jánosnak, akinek szakmai támogatása és segítő biztatása nagymértékben hozzájárult az eredmények megszületéséhez. Szerencsésnek érzem magam, hogy az általa megteremtett baráti légkörben ismerhettem meg a tudományos gondolkodás alapjait, a kísérletes kutatómunka, és az egyetemi oktatómunka mindennapjait. Az itt eltöltött évek igényességre, önálló problémamegoldásra és az új ötletek iránti nyitottságra neveltek.

A tézisben leírt eredmények és következtetések természetesen nem egy ember, hanem egy kutatócsoport együttgondolkodásából és közös munkájából születtek. Külön köszönetet szeretnék mondani dr. Gáspár Imrének az inspiráló közös munkáért, és itt is ki szeretném emelni, hogy a MT polimerizációs kísérletek eredményei, melyek következtetéseink egyik fontos pilléréként szolgálnak az általa kifejlesztett kísérleti rendszerben, az ő keze alatt születtek. Segítőkészségükért és szakmai útmutatásaikért köszönettel tartozom kutatócsoportunk korábbi és jelenlegi tagjainak: dr. László Zsuzsának, dr. Lippai Mónikának, Sarkadi Zsuzsának, dr. Tirián Lászlónak, dr. Timinszky Gyulának, dr. Belec Istvánnak, Ördög Balázsnak és Szalontai Tamásnak.

Odaadó munkájukért és a napi munkához háttérrel biztosító kellemes légkörért szeretnék köszönetet mondani Teleki Gabriellának, Kissné Aninak, dr. Kisapátné Margónak, Révész Katinak, Pirooska Néninek és Lajos Bácsinak.

Köszönetet szeretnék mondani az SZBK Genetikai és Biokémiai Intézetei és a Szegedi Tudományegyetem Genetikai és Molekuláris Biológiai Tanszéke vezetőinek ill. munkatársainak: dr. Erdélyi Miklósnak, dr. Deák Péternek és dr. Boros Imrének szakmai útmutatásaikért. Szeretném megköszönni dr. Ovádi Juditnak, az SZBK Enzimológiai Intézete munkatársának, a szarvasmarha tubulint.

Elsősorban pedig köszönettel és hálával tartozom szüleimnek, bátyámnak és barátnőmnek, akik érdeklődésükkel, türelmükkel és támogatásukkal biztosították, hogy nyugodt körülmények között foglalkozhassam a munkámmal.

Az értekezés alapját képező kísérletek a (1) Magyar Tudományos Akadémia Anyai Hatás és Embriógenesis Kutatócsoport, (2) az FKFP (No. 1348) és (3) a Szegedi Tudományegyetem Hallgatói Képzési Programjának anyagi támogatásával készültek.