

Részletes zárójelentés a

**Fehérjék membránba ágyazódásának, szerveződésének
és lipidekkel való kölcsönhatásának biofizikája**

című OTKA K43425 (2003-2006) alapkutatói projektről

I. A munka feltételei, változások a munkatervhez képest

Az eredeti szerződésben 2003 áprilisában a következő megjegyzést tettem az elvárt részletes munkatervvel kapcsolatban (amin a "fentiek"-et értem az idézett szövegben): "A tudományos kutatás egy nagyon lényeges eleme, hogy rendszeresen felmerülnek olyan szempontok, amelyek akár az eredeti célokat is felülírhatják, sőt a legjelentősebb felfedezések leginkább váratlan megfigyelésekből születnek. Ha egy kutatási projektről tudni lehet az eredményeket 4 évre előre, véleményem szerint annak a kutatásnak nem sok értelme van. A fentieket elsősorban az elvárások miatt irtam, miközben biztos vagyok benne, hogy a kutatás során felbukkanó eredmények érdekesebbek (de mindenképpen reálisabbak) lesznek annál, mint amit én fentebb jósolni próbálok. Ha például a csoport más kutatási objektumáról (másik membránfehérje vagy biomembrán) derül ki, vagy a kooperációs munkáink során találkozunk olyan membránfehérjével, hogy az alapvető céljainkhoz szintén közelebb visznek, akkor azokon is el fogjuk végezni a szükséges kísérleteket, függetlenül attól, hogy konkrétan megneveztük-e őket a pályázatban vagy a jelen szerződésben. Ugyanez vonatkozik arra (az egyébként gyakori) esetre, amikor új, fontos kérdések, ötletek merülnek fel. Ez a megközelítés szerintem nem csak indokolt, de egy kutatótól elvárható is."

Szinte a fentieket igazolandó a projekt tényleg vett új irányokat is, aminek sajnos azonban leginkább a kutatáson kívüli okai voltak. Először is a támogatás első részlete csak az év második felében érkezett meg. A pályázat pénzügyi gazdálkodását pedig felborította a többszöri elvonás: a tudományos kutatásra vonatkozó ÁFA szabályoknak a pályázat megnyerése után történt (kedvezőtlen) módosítása és a későbbi 14%-os elvonás. (Megjegyzem, hogy elnyert és szerződött pályázatból való utólagos elvonásra nem emlékszem korábbi pályafutásomból.) Ez lehetetlenné tette, hogy a jóváhagyott szakmai és pénzügyi tervnek megfelelően, felvegyek egy doktoranduszt vagy posztdoktori munkatársat. Mindezek miatt az eredeti munkatervben foglalt fehérje gombolyodás "rapid mix" egységgel történő időfelbontásos mérése, a fehérje gombolyodás szimulációjának megkezdése és a V-ATPáz rotációjának fluoreszcenciás-spinjelzős módszerrel történő mérése irreálissá vált. További ok volt a differencia pásztázó kaloriméterrel kapcsolatos technikai probléma és - kisebb mértékben - a javítás nem tervezett költsége. A fehérje gombolyodás elméleti vizsgálata a humán és technikai erőforrások hiánya miatt is megghiúsult, ugyanis a kutató,

aki a modellező munkát csinálta volna még a kutatás megkezdése előtt külföldi posztdoktori munkát vállalt (azután, hogy munkahelyi problémák is voltak vele), és nem tudtam pótolni. A tervezett komplex spektroszkópiai módszerfejlesztésben sem jutottunk addig, mint szerettünk volna. Ezen okok miatt a kiválasztott membránfehérjék gombolyodásának kinetikája helyett más fehérjék termikus stabilitásával foglalkoztunk. A költségvetési tételek között a 4 év alatt jelentős korrekciót kellett eszközölnünk, természetesen az Élettudományi Kollégium engedélyével.

A fentiek ellenére is igyekeztünk a támogatásból a lehető legtöbbet kihozni, a kevésbé költségigényes kísérletek előtérbe helyezésével és erőteljesebb külföldi kooperációval. Emiatt persze diverzebb és kevésbé fókuszált volt a kutatómunka, mint terveztük.

II. A vakuólum ATP-függő proton pumpája (a V-ATPáz)

A vakuoláris proton-ATPáz (V-ÁTPáz) sejten belüli vagy sejtek közötti kompartmentumok savanyítását végzi, ugyanis az ATP hidrolízisből nyert kémiai energia révén protonokat pumpál a membránon keresztül. A V-ATPáz által végzett savanyítás nem csak normál életfolyamatok, hanem több ismert betegség (pl. rosszindulatú daganatok, csontritkulás) kialakulásának ill. terjedésének feltétele is. Ezért szövetspecifikus gátlása igen jelentős terápiás potenciállal bírna. Specifikus gátlóanyagok tervezéséhez és szintéziséhez pedig minél több, a biológiai funkció szempontjából releváns szerkezeti adat szükséges. A V-ATPázzal kapcsolatban alapvető célunk szerkezeti adatok gyűjtése volt spektroszkópiai módszerekkel.

Az előző pontban említett problémákat tetézte, hogy (ottani kapacitáshiányok miatt) sem Leedsből, sem Glasgowból nem kaptunk elegendő mennyiséget a V-ATPáz ill. a 16 kDa-os langusza fehérjét tartalmazó membránpreparátumból. Mindezek a V-ATPázzal kapcsolatos munkának némileg új irányt adtak: a kísérletek egy részét korábbi preparátumokon végeztük (Páli, 2006), de ugyanakkor elhatároztuk, hogy elindítjuk Szegeden is a vakuólum membránok tisztítását élesztőből, mégpedig a saját laborunkban. Ez sok munkát és időt igényelt egy olyan kutatási területen, ahol nem vagyunk otthon, ezért a sikerünk (Ferencz és Páli, 2005) a projekt egyik legfontosabb eredménye, jóllehet ez még folyóiratcikkben nem jelent meg. A szakirodalomban több tisztítási eljárást azonosítottunk és ezek kombinálásából olyat dolgoztunk ki, amely a plazmamembrán szintjéig azonos, függetlenül a további vakuólum, vagy fehérje tisztítási lépésektől (a plazmamembránra ugyanis más mérésekhez is szükségünk volt ill. van). Az élesztő tenyésztését az SzBK-ban a Haracska Lajos vezette csoport segítségével állítottuk be. Az élesztő vakuólum membrán tisztítását, a lipid és fehérje tartalom, valamint az ATPáz aktivitás mérését magunk dolgoztuk ki a szakirodalomban publikált eljárások adaptálásával, amiben Bérczi Alajos tapasztalataira is építettünk. 2004-ben a csoporthoz csatlakozott egy új diák (Ferencz Csilla Mária), aki SzBK ITC (azaz Nemzetközi Továbbképző Tanfolyam) ösztöndíjasként, majd Ph.D ösztöndíjasként ezen a témán dolgozik azóta is. Másik ITC,

majd Ph.D ösztöndíjasunk (Pilbat Annamária) részben szintén a jelen projekteken dolgozik és feladata a lipid-fehérje kölcsönhatás vizsgálata natív biomembránokon, élesztő vakuólum és plazmamembránokon is, elsősorban Fourier transzformációs infravörös (FTIR) spektroszkópiával, Szalontai Balázs szakmai irányításával. Az aktivitás változását a V-ATPáz ismert és potenciális gátlóanyagai jelenlétében is megmértük. Az általunk izolált vakuólum membránok teljes ATPáz aktivitásának jelenleg mintegy 40%-a származik a V-ATPázról. A jövőben ezt az arányt különféle mosási és membrán izolációs eljárásokkal fogjuk javítani. Tervezzük továbbá, hogy az izolált vakuólum vezikulákon V-ATPáz aktivitást mérünk oszcilláló elektromos térben a forgó mechanizmus és a gátlóanyagok arra gyakorolt hatásának vizsgálata céljából.

Multilaterális nemzetközi együttműködésben szintetikus V-ATPáz inhibitorok membránkötődését és membránba való beépülését tanulmányoztuk (Páli és mtsai., 2004). A kísérletek igazolták, hogy az indol típusú inhibitorok a membránban hatnak, hiszen egyrésztől perturbálják a membránlipidek fázistranzícióját, másrésztől a szintetikus spinjelzett potenciális gátlóanyagok "érzik" a fázistranzíciót. Korábbi eredményeinkkel együtt, a mostani adatok valószínűsítik, hogy mind a természetes, mind a szintetikus V-ATPáz gátlóanyagok a membrán hidrofób régiója felől a fehérje felszínéhez kötődve fejtik ki hatásukat.

Elektron paramágneses rezonancia (EPR) módszerekkel sikerült kimutatnunk, hogy a V-ATPáz *c* alegységével rokon, azt funkcionálisan helyettesíteni képes, a langusztából izolált 16 kDa-os csatorna fehérje kétértékű kation kötőhelyet tartalmaz, amelyen a fehérje tisztításakor Cu^{2+} található (Páli és mtsai., 2006). A kötött réz kelátorral eltávolítható és helyére Ni^{2+} köthető. A kötőhelyet spinjelző EPR mérésekkel a fehérjének a lipid fejcsoport régióba eső részén lokalizáltuk, funkciója azonban még ismeretlen. A kötőhely léte a V-ATPáz *c* alegységén fontos kérdéseket vet fel a fehérje alegység szerveződésével és működésével kapcsolatban. Egy új pályázat keretében meg fogjuk vizsgálni, hogy ennek a fémkötőhelynek mi a szerepe a *c* alegységek hatos gyűrűbe való összeszerveződésében.

Teljes visszaverődéses (ATR) FTIR és spinjelző EPR kísérleteket végeztünk olyan mesterséges polipeptidekkel, amelyeket a V-ATPáznak a funkció szempontjából érdekes transzmembrán hélicei (konkrétan az élesztő jelölés szerinti *vma3* és *vph1* transzmembrán alegységeknek a feltételezett proton útvonallal kapcsolatos része) alapján szintetizáltak (Kóta és mtsai., 2005). Meghatároztuk a peptidek másodlagos szerkezetének összetételét és a peptidek membránbeli orientációját. Megvizsgáltuk azt is, hogy hogyan változnak a peptidek ezen paraméterei különböző V-ATPáz inhibitorok hatására. A párhuzamos spinjelző EPR kísérletek kiértékelése folyamatban van. Megfigyeléseink adatokat adnak a V-ATPáz membrán alegységeinek szerveződéséről, illetve a specifikus inhibitor kötőhelyekről. E munkát remélhetőleg egy új OTKA pályázatban folytatjuk.

III. Fehérjék és polipeptidek membránlipidekkel való kölcsönhatása

Kísérletes munka

A lipid-fehérje kölcsönhatás mérésére alkalmas módszereink finomítása érdekeben elkezdtünk behatóbban foglalkozni a lipid láncok CH₂ nyújtórezgésének FTIR spektroszkópiájával. A munka a korábbi, Szalontai Balázs által publikált megfigyelésen alapszik, miszerint a kérdéses vibrációs sáv illesztéséhez legalább két komponensre van szükség. A két komponens eredetének azonosítására mesterséges és natív membránokon felvett spektrumok sávösszetételéből nyert adatokat molekulaszervezeti modellekkel vetjük össze. Ezen eredmények reményeink szerint elvezetnek a CH₂ vibrációs sáv molekulaszervezeti alapon nyugvó kiértékeléséhez. Az FTIR-el nyert szerkezeti és a spinelző EPR spektroszkópiával nyert dinamikai adatok pedig együtt a lipid-fehérje határrégióban zajló nem kovalens molekuláris kölcsönhatások jobb leírásához visznek majd közelebb. Ezek a kölcsönhatások alapvető fontosságúak a membránfehérjék membránba ágyazódása, hajtogatódása és szerveződése, oligomerizációja szempontjából, bármilyen hidrofób polipeptidről, vagy membránfehérjéről legyen is szó. Elkészült egy olyan kísérleti elrendezésünk is, amellyel biológiai mintán EPR és fluoreszcencia spektrumokat egyszerre mérhetünk a spin és fluoreszcens jelzők közötti kölcsönhatások, távolsági relációk meghatározása céljából, de ezt a technikát egyelőre csak modellrendszereken teszteltük. A membránlipidek és membránfehérjék lassú (mikroszekundum skálán zajló) dinamikájának és spin-spin kölcsönhatások mérésére korábban kidolgozott nem lineáris EPR spektroszkópiai módszereinket és alkalmazásukat egy könyvfejezetben foglaltuk össze (Marsh és mtsai., 2004).

A 15 aminosav hosszúságú ismert antibakteriális hidrofób polipeptid, a gramicidin A (GA) membránba épülését, membránbeli orientációját és lipidekkel való nem-kovalens kölcsönhatását tanulmányoztuk polarizált teljes visszaverődéses FTIR és spinjelző EPR spektroszkópiával (Kóta és mtsai., 2004). Dimirisztoilfoszfátidilkolinban (DMPC) a peptid orientációja hasonló a lipidekéhez gél és fluid fázisú membránban is. Más fejcsoporttú lipidek membránjában mind a lipidek, mind a peptid kevésbé jól orientált. DMPC membránban a polipeptid 3-4 lipid zsírsavláncainak rotációs dinamikáját befolyásolja és preferenciát mutat negatív fejcsoporttöltésű lipidek felé. A kísérletek azt mutatták, hogy a polipeptid lipid membránba épülése, az abban felvett szerkezete és iránya, valamint a membránlipidekkel való kölcsönhatása (specifitás és sztöchiometria) erősen függ a membrán lipid összetételétől és fizikai állapotától. Ezen megfigyelések fontosak lehetnek olyan új membránspecifikus antibiotikumok tervezése és szintézise során, amelyek az emberi vörösvértestek membránjában nem aktiválódnak, miközben a baktérium membránokban kifejtik pórusformáló, sejtromboló hatásukat.

Egy antibakteriális fehérje, a lizozim membránfelszíni termikus denaturációját tanulmányoztuk differencia pásztázó kalorimetriával (DSC), spinjelző EPR és FTIR technikákkal, a lizozim

membránfelszínnel való kölcsönhatásának és e kölcsönhatásnak a fehérje termikus stabilitására és a lipid membrán fázisviselkedésére gyakorolt hatásának feltárására. Eredményeink szerint ennek a fontos antibakteriális fehérjének a kitekeredése és kicsapódása szintén erősen függ az oldatban jelenlévő lipid vezikulák kémiai összetételétől és membránjaik fizikai állapotától. Ez a megfigyelés nagyon érdekes annak fényében, hogy a fehérje, mint antibakteriális hidroláz, minden bizonnyal kölcsönhat az idegen sejt membránjával is. A lizozimmal kapcsolatos munka a témán dolgozó kutató (Fodor Elfrieda) mintegy 2,5 éves külföldi útja miatt késedelmet szenvedett. Erről a munkáról eddig csak posztert mutattunk be (Fodor és mtsai., 2005), de a még hátralévő kísérletek elvégzése után tervezzük a publikálását.

Spinjelző EPR spektroszkópiával meghatároztuk a nitrogén monoxid (NO) és egyik, terápiás kísérletekben használt donorjának foszfolipid membránba való behatolási profilját csaknem atomi felbontásban és ezeket a molekuláris oxigén szintén megmért megfelelő profiljával hasonlítottuk össze (Nedeianu és mtsai., 2004). Az NO szintézise, transzportja kapcsolódik biomembránokhoz és az NO által módosított molekulák vagy atomcsoportok (pl. membránfehérjék tiol csoportjai) egy része is membránhoz kötött. Ez a munka nem szerepelt az eredeti munkatervben, de minthogy az NO egyik támadási pontja membránfehérjék tiol csoportjai, így felvetődött a hipotézis, hogy a S-S hidak kialakulásának perturbálásával az NO esetleg képes befolyásolni membránfehérjék membránbeli szerveződését és harmadlagos, negyedleges szerkezetét. Ennek vizsgálatához viszont fontos tudni, hogy az NO milyen mélységben hatol egy foszfolipid membránba. Az NO az oxigénhez hasonló, de szélesebb és kissé eltolt profilt mutat. Az NO donorja szintén a membrán belső, hidrofób régiójában lokalizálódik. A nitrozilálható membránfehérje oldalláncok és membrán-kötött szabadgyökös reakciók biokémiájának és élettani szerepének jobb megértéséhez visznek közelebb ezen eredményeink. Részben ez a munka volt az alapja egyik volt Ph.D ösztöndíjasunk (Saviana Nedeianu) Ph.D értekezésének, amelyet 2004 tavaszán sikeresen megvédett és ami alapján a Ph.D fokozatot is megkapta.

Egy multilaterális nemzetközi együttműködés keretében cápából ill. sertésből izolált Na,K-ATPáz enzim termikus stabilitásával foglalkoztunk, fő technikaként DSC-t használva. A két enzim denaturációs DSC görbéje hasonló, de azok egymáshoz képest el vannak tolva a hőmérsékleti skálán, mintha a fehérjék adaptálódtak volna a környezet hőmérsékletéhez. A másik fontos megfigyelés, hogy egyszeres pozitív töltésű ionok mindkét enzimet stabilizálják termikus denaturációval és aktivitás veszteséssel szemben. Az eredményekből írt kézirat csaknem elkészült. Szintén a DSC technikát használva, az SzBK-n belüli együttműködésben vizsgáltuk a bacteriorhodopsin termikus stabilitását Hofmeister sók illetve hidroxilamin jelenlétében. Előbbi adatok egy kollégánknak (Dér Andrásnak) a Hofmeister jelenség újszerű elméleti leírásához szolgáltattak adatokat. Utóbbi méréseket Tokaji Zsolt kollégánk kezdeményezte és a bacteriorhodopsin optikai kifakulása és termikus denaturációja közötti kapcsolat feltárására irányulnak. Egy másik SzBK-n belüli kooperációban Garab Győző fotoszintetikus membrán

kutatásainak támogatására fluoreszcencia spektroszkópiával tanulmányoztuk a lipid-fehérje kölcsönhatást fotoszintetikus membránokban. A kapcsolódó közlemények előkészítés alatt vannak.

Modellezés, szerkezetanalízis

Az utóbbi években számos megfigyelés azt igazolta, hogy a lipid = szerkezet, fehérje = funkció szereposztás biomembránokban túlzottan leegyszerűsítő, ami a figyelmet a lipid-fehérje kölcsönhatás funkcionális szerepére irányította. Valójában a lipid-fehérje kölcsönhatás az egyik legfontosabb tényező, amely befolyásolja a fehérjék membránbeli szerveződését és így azok funkcióját is. A kérdés aktualitását felismerve egy összefoglaló közleményben vettük számba a lipid-fehérje kölcsönhatás funkcionális jelentőségét fotoszintetikus membránokban (Páli és mtsai., 2003). A lipid-fehérje kölcsönhatás típusait, a membránfluiditással való kapcsolatát, detektálási módszereit térképeztük fel a membránszerkezet és –dinamika szemszögéből. A membránfehérjékkel kölcsönható lipidek szerepet játszanak a membrán fluiditás szabályozásában, bizonyos membránfehérjék szerkezetének stabilizálásában ill. biológiai funkciójának ellátásában csakúgy, mint a fehérje oligomereknek ill. aggregátumoknak akár a normális fejlődés során bekövetkező, akár az abnormális körülmények okozta átszerveződésében. A közlemény rámutat a fotoszintetikus membránok lipid összetételét befolyásoló enzimek és gének ill. azok manipulálásának jelentőségére és valószínűsíti a szakterület következő években várható kutatási irányait is.

A göttingeni partnerünkkel (Derek Marsh) együttműködésben ismert szerkezetű membránfehérjék solvatációs lipid burkát modelleztük és ezen szerkezeti adatoknak a vonatkozó, elsősorban a partner által biztosított molekuladinamikai spinjelző EPR adatokkal vetettük össze. A munka során az összes olyan ismert szerkezetű membránfehérje esetében meghatároztuk a fehérje solvatációs lipidjeinek a számát, amelyekre a feldolgozáskor volt megfelelő spinjelző EPR adat is (Páli és mtsai., 2006). A munka legfontosabb eredménye, hogy a spektrumkomponensek szeparációján alapuló spinjelző EPR módszer az ún. immobilis komponenssel valóban az első réteg, ún. solvatációs lipideket méri membránfehérjék esetében, legalábbis a vizsgált jól definiált modellrendszerekben. Ráadásul ezek a méretek jól egyeznek az egyszerű geometriai modellekkel kapott korábbi adatokkal. Ezt azt jelenti, hogy a lipid láncok és transz-membrán fehérje szegmensek csatolódása megjelenik a 10^{-9} - 10^{-7} sec időskáláján is, és meg tudjuk határozni a membránfehérjék intramembrán felszínét lipid láncokban mérve. Ezzel a korábbi megközelítést (Marsh és Páli, 2004) megerősítve, az immobilis lipidek mérését, mint a membránfehérjék szerkezetbiológiai vizsgálatának egyik fontos módszerét validáltuk. A munka folytatásaként a jövőben meg fogjuk vizsgálni molekuladinamikai szimulációkkal, hogy a lipid láncok dinamikájában gyorsabb időskálán is van-e különbség. Ebben a munkában részt vett Denys Bashtovyy, a csoport volt Ph.D ösztöndíjasa, aki 2004 októberében sikeresen megvédte Ph.D értekezését. Egy ezzel párhuzamos közleményünkben megvizsgáltuk az ismert szerkezetű membránfehérjékkel együtt kristályosodott

lipidek vagy lipid fragmentumok konformációit (Marsh és Páli, 2006). Ezek a kofaktor lipidek általában szükségesek az adott fehérje szerkezeti integritásához és funkciójához. Sajnos az esetek nagy számában a lipidek energetikailag nem megengedett konformációban vannak és jelentősen eltérnek a tiszta lipid kristályokban előforduló konformációktól. Ez remélhetőleg felhívja a röntgenkristallográfusok figyelmét a fehérjével együtt kristályosított kofaktorok alaposabb szerkezeti meghatározásának szükségességére.

IV. Egyéb eredmények

A fentiek mellett elfogadásra került egy közleményünk amely nem tartozik a jelen pályázat témakörébe, de - célzott támogatás híján - a jelen pályázat nélkül nem jöhetett volna létre. A munka során megvizsgáltuk, hogy makói, valamint szerbiai és lengyel eredetű szárított hagymatermékek biológiai tisztaságára, szabadgyök tartalmára és egyéb élelmiszerbiztonsági és -minőségi paramétereire hogyan hat az ismert gamma-sugaras tartósítási eljárás (Kispéter és mtsai., 2004). Kiderült, hogy a mellékhatások erősen függenek a hagyma minta minőségétől és megadtuk az észlelhető károsítást még nem okozó kritikus dózisszintet. Az ilyen együttműködések előtt nyitottnak kell lennünk, mert a szabadgyökök közvetlen méréséhez szükséges, a régióban egyetlen készülék a mi EPR spektrométerünk.

Hasonlóan, elfogadásra került egy közleményünk, amely nem tartozik a jelen pályázat témakörébe, de OTKA támogatás nélkül nem jöhetett volna létre. A munka során egy immunológiai kísérletben szabadgyök csapdázási kísérleteket végeztünk EPR technikával (Fejér és mtsai., 2005). Ez a közlemény sajnos csak nagy késéssel jelent meg, így egy korábbi OTKA pályázat kódja szerepel benne, de annak a pályázatnak a beszámolójába már nem kerülhetett bele.

A publikációs listában szerepelnek olyan közleményeink (áttekintő közlemény, könyvfejezet) is, amelyekbe jellegükénél fogva nem tudtam az OTKA támogatást feltüntetni, de szorosan kapcsolódnak a jelen pályázathoz.

Eredményeinkről több hazai és nemzetközi tudományos összejevetelen beszámoltam meghívott előadóként. Az ESF-COST Action D22 igazgatósági bizottsága a "lipid-fehérje határfelület molekuláris kölcsönhatásai" munkacsoportja koordinátorának választott és ebben a minőségben a helyi szervezőkkel együtt szerveztem egy munkaértekezletet az olasz Cosenza egyetemen. Részben a jelen és korábbi OTKA projektekben végzett munkára alapozva a csoport egyik tagja, aki egyúttal a jelen projekt résztvevője is (Szalontai Balázs) és én is 100%-os eredménnyel megvédtük MTA doktori értekezésünket.

Az OTKA zárójelentésekkel kapcsolatos <http://www.otka.hu/index.php?akt_menu=2993>

iránymutatás alapján, tekintve, hogy a projekt egyes további lényeges eredményeinek közzétételére, remélhetőleg 2 éven belül sor kerül, kérem, hogy ebben a jelentésben foglaltak alapján született minősítést az OTKA kiegészítő eljárásban később majd módosítsa, figyelembevéve majd a jelen beszámoló után megjelenő új közleményeket is. (A munkacsoport korábbi OTKA projektjének beszámolásánál ez a lehetőség nem állt fenn, pedig számos közlemény született a zárójelentés leadása után.)

Közlemények nemzetközi folyóiratokban

Fejér, G., Szalay, K., Győry, I., Fejes, M., Kusz, E., Nedeanu, S., Páli, T., Schmidt, T., Siklódi, B., Lázár, G., Lázár, G., Duda, E.: Adenovirus infection dramatically augments lipopolysaccharide-induced TNF production and sensitizes to lethal shock, *Journal of Immunology* 175(3), 1498-1506, 2005

Kispéter, J., Fekete, M., Fehér, L., Fodor, E., Kovács, L., László, Zs. and Páli, T.: Quality changes in dry onion products during conservation: A comparative study, *Academic and Applied Research in Military Science* 3(5), 689-693, 2004

Kóta, Z., Páli, T. and Marsh, D.: Orientation and lipid-peptide interactions of gramicidin A in lipid membranes: polarized ATR infrared spectroscopy and spin-label electron spin resonance, *Biophysical Journal* 86(3), 1521-1531, 2004

Marsh, D. and Páli, T.: The protein-lipid interface: perspectives from magnetic resonance and crystal structures (review article), *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes* 1666(1-2), 118-141, 2004

Marsh, D., Horváth, L.I., Páli, T., and Livshits, V.: Chapter 11: Saturation Transfer Spectroscopy of Biological Membranes, In: *Biomed. EPR - A: Free Rad., Metals, Med. and Physiol. Ser.: Biol. Magn. Res.*, 23, Set: *Biomed. EPR*. Eaton, S.S. and G.R.; Berliner, L.J., eds. Plenum, pp. 309-368, 2004

Marsh, D. and Páli, T.: Lipid conformation in crystalline bilayers and in crystals of transmembrane proteins (review paper), *Chemistry and Physics of Lipids* 141, 48-65, 2006

Nedeanu, S., Páli, T. and Marsh, D.: Membrane penetration of nitric oxide and its donor S-nitroso-N-acetylpenicillamine: a spin-label electron paramagnetic resonance spectroscopic study, *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes* 1661(2), 135-143, 2004

Páli, T., Garab, G., Horváth, L.I., Kóta, Z.: Functional significance of the protein-lipid interface in photosynthetic membranes, *Cellular and Molecular Life Science* 60, 1591-1606, 2003.

Páli, T., Dixon, N., Kee, T.P., and Marsh, D.: Incorporation of the V-ATPase inhibitors concanamycin and indole pentadiene in lipid membranes. Spin-label EPR studies., *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes* 1663(1-2), 14-18, 2004

Páli, T., Bashtovyy, D. and Marsh, D.: Stoichiometry of lipid interactions with transmembrane proteins - deduced from the 3-D structures, *Protein Science* 15, 1153-1161, 2006

Páli, T., Finbow, M.E. and Marsh, D.: A divalent-ion binding site on the 16-kDa proton channel from *Nephrops norvegicus* - revealed by EPR spectroscopy, *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes* 1758, 206-212, 2006

Konferencia kiadványok

Ferencz, Cs.M. and Páli, T.: Purification and calorimetric study of vacuolar proton-ATPase from *Saccharomyces cerevisiae*, Closing Report, 32nd International Training Course of the Biological Research Centre, Szeged (Hungary), August 18, 2005, 2005

Fodor, E., Szalontai, B., Marsh, D. and Pali, T.: Thermal unfolding of lysozyme at the membrane-water interface: calorimetric and spectroscopic studies, COST D22 Working Group Meeting "Principles of Membrane Protein Folding and Stability", Lisbon Univ. (Portugal), May 9-10, 2005.

Kóta, Z., Páli, T. and Marsh, D.: Incorporation and orientation of peptide analogues of the transmembrane helices of the V-ATPase Vo domain in lipid membranes. An ATR-FTIR study, 11th European Conference on the Spectroscopy of Biological Molecules, Aschaffenburg (Germany), September 3-8, 2005

Páli, T. and Marsh, D.: Spectroscopy-based structural studies on membrane proteins and the lipid-protein interface, Annual Workshop COST D22 "Protein-Lipid Interactions", Centre for Advanced Acad. Stud., Dubrovnik (Croatia), October 6-8, 2005

Páli, T.: Spin label EPR studies of the vacuolar proton-ATPase, Advanced Techniques and Applications of EPR, Edinburgh University (Scotland), April 2-5, 2006, 2006

Szalontai, B., Kóta, Z. and Páli, T.: Fourier Transform Infrared spectroscopy of CH₂ stretching vibrations of lipid acyl chains, COST D22 Working Group Meeting "Molecular Interactions of the

Lipid-Protein Interface", Univ. Calabria (Italy), September 10-12, 2005

Szeged, 2007. február 27.

Témavezető: Páli Tibor