

AZ AtNDX TRANSZKRIPCIÓS FAKTOR ÉS AZ R-HURKOK KROMOSZÓMÁLIS TOPOGRÁFIÁJA

Mosolygó-Lukács Ágnes^{1,2}, Székvölgyi Lóránt^{1,2}

¹MTA-DE Lendület Genomszerkezet és Rekombináció Kutatócsoport, Molekuláris Medicina Kutatóközpont, Debreceni Egyetem

²Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet, Debreceni Egyetem

Összefoglalás

A kromoszómális R-hurkok háromszálú nukleinsav struktúrák, amelyek egy RNS-DNS hibridből és egy kiszorított, egyszálú DNS-ből állnak. A lúdfű (*Arabidopsis thaliana*) Nodulin homeobox (NDX) fehérjéje az egyetlen ismert transzkripció faktor, amely közvetlen szerepet játszik az R-hurkok stabilizálásában. Munkánk során az AtNDX és az RNS-DNS hibridek együttes előfordulását vizsgáltuk konfokális lézerpásztázó mikroszkópiával az egyedi sejtek szintjén, illetve új-generációs szekvenálással a sejtpopuláció szintjén. Kísérleteinkben meghatároztuk az AtNDX fehérje és az RNS-DNS hibridek kromoszómális kötőhelyeit (cisztrómját) és azok átfedését a teljes genom szintjén, valamint az AtNDX és RNS-DNS hibrid kötőhelyeket összefüggésbe hoztuk a magasabbrendű kromatinszerkezet egyes elemeivel (gén-hurkok) és a génexpresszió szabályozásával.

Bevezetés

Az R-hurkok (R-loop-ok) olyan háromszálú RNS-DNS hibrid struktúrák, amelyekben egy RNS molekulával hibridizáló templát DNS kiszorítja a komplementer DNS szálát. R-hurkokat *Escherichia coli*-ban azonosítottak legelőször, később azonban élesztő, egér és humán modellorganizmusokban is részletesen megvizsgálták a biológiai szerepüket [1-4]. Sokáig műterméknek illetve a transzkripció melléktermékének tekintették őket, azonban az elmúlt húsz év kutatásai számos fiziológiai és patológiai folyamatban bizonyították a szerepüket. Az R-hurkok többek között részt vesznek a B limfociták immunglobulin génjeinek izotípus váltásában, a mitokondriális DNS

replikációjában [5, 6], a pericentrikus heterokromatin kialakításában [6] és a transzkripció szabályozásában [2]. A fiziológiás folyamatokban betöltött szerepén túl az R-hurkok sejtmagban történő felhalmozódása DNS károsodáshoz vezet, dupla-szálú DNS töréseket és a genom instabilitását okozva. Sorra látnak napvilágot azon tudományos publikációk, amelyek az R-hurkokkal összefüggésbe hozható gének mutációinak a patológiás következményekre világítanak rá (1. táblázat). Egyes hipotézisek szerint az R-loop-ok felhalmozódásához köthető például bizonyos daganatos és neurodegeneratív megbetegedések kialakulása [7].

1. táblázat. R-hurkokkal összefüggésbe hozható betegségek és gének, amelyek mutációja az adott betegséget eredményezheti

Betegség	Gén
Miotóniás disztrófia	DMPK
Huntington kór	HTT (CAG) _n
FRAXE, Fragilis X betegség (E típus)	FRM2 (CCG) _n
FXS vagy FRAXA, Fragilis X betegség (A típus)	FMR1 (CGG) _n
FXTAS, Fragilis X betegséghez kapcsolt tremor-/ataxia-szindróma	FRM1/FRM4 (CGG) _n
SCA, Spinocerebelláris ataxia	ATXN1, ATXN2 (CAG) _n
FRDA, Friedreich ataxia	FXN (GAA) _n
ALS/FTD, Frontotemporális demencia	C9orf72 (GGGGCC) _n
Emlőrák, Petefészekrák	BRCA1, BRCA2
Eosinofil leukémia	FIP1
Seminoma	BRE1
Vastagbélrák	VIM
FA, Fanconi anémia	FA gének pl.: FANCM, FANCD2
ALS, Amiotrófiás laterálszklerózis	ATXN2
AOA2, Ataxia oculomotor apraxia 2	SETX
AGS, Aicardi-Goutières szindróma	TREX1, RNASEH2, SAMHD1
PWS, Prader-Willi szindróma	SNORD116
Burkitt limfóma	c-MYC és IgH
MM, Myeloma multiplex	c-MYC és IgH
Malignancia, AIDS esetén	hTREX

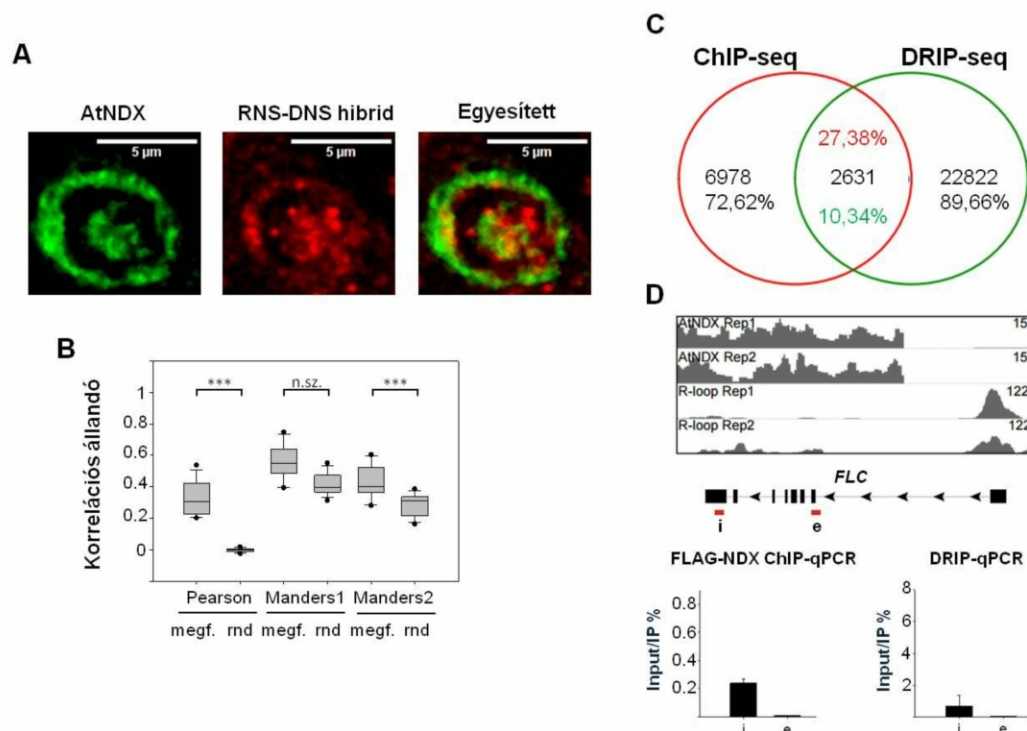
A lúdfű (*Arabidopsis thaliana*) Nodulin homeobox (NDX) fehérjéje az egyetlen ismert transzkripciós faktor, amely közvetlen szerepet játszik az R-hurkok stabilizálásában. Az AtNDX a virágzást szabályozó FLOWERING LOCUS C (FLC)

génről antiszensz irányban átíródó nem-kódoló RNS (COOLAIR) expresszióját kontrollálja [9]. Az AtNDX egy egyszálú DNS-hez kötődő homeodomain fehérje, amely az FLC lókuszon a COOLAIR promoter régiójában feldúsul és egy R-hurok szerkezetet stabilizál – ezáltal represszálva az FLC kifejeződését. Az *eoc1-4* mutáció az AtNDX gén inzerciós inaktivációját okozza, amely DNS-RNS immunprecipitációs (DRIP) mérések szerint R-loop felhalmozódáshoz vezet az FLC gén területén [8]. Ennek a mérőfüldkőnek számító eredménynek a tükrében jogosan vetődik fel a kérdés, hogy vajon az AtNDX fehérje és R-hurkok a teljes genom szintjén is funkcionálisan kapcsolatosak, vagy ellenkezőleg, szerepük heterogén. Kutatásunkban az AtNDX és RNS-DNS hibridek kromoszómális eloszlását vizsgáltuk immunlokalizációs módszerekkel valamint új-generációs szekvenálással, kromatin immunprecipitációval (ChIP-seq) és DNS-RNS immunprecipitációval (DRIP-seq).

Eredmények

Az AtNDX és az RNS-DNS hibridek eloszlása az egyedi sejtek szintjén

Immunfluoreszcens vizsgálataink során az AtNDX-GFP fúziós fehérjét és az RNS-DNS hibrideket megjelöltük anti-GFP és anti-RNS-DNS hibrid antitestekkel [9-10]. A kettős immunjelölés során só kezelést (600 mM NaCl) alkalmaztunk a gyengén és aspecifikusan kötődő jelölt molekulák eltávolítására. Az immunfluoreszcens jelek detektálását konfokális lézerpásztázó mikroszkóppal végeztük. Az AtNDX és RNS-DNS hibridek kolokalizációjának kvantifikálása a Pearson és Manders' korrelációs koeficiensek alapján történt [11]. A statisztikai szignifikancia megállapításához a megfigyelt korrelációs koeficiensek eloszlását a mikroszkópos felvételekből randomizált pixelek eloszlásához hasonlítottuk. Számításaink igazolták, hogy az AtNDX és RNS-DNS hibrid struktúrák a sejt-magban dúsulnak és szignifikánsan kolokalizálnak egymással (1. ábra A). A Pearson-koeficiens alapján közepesen erős kolokalizációt állapítottunk meg ($p=0,35$), amely statisztikailag szignifikánsan különbözött a random értéktől. A Manders' koeficiens két paramétere szintén jelentős együttes előfordulást mutatott (1. ábra B).



1. ábra. AtNDX és RNS-DNS hibrid kötőhelyek azonosítása az Arabidopsis genomban.

(A) Az AtNDX és RNS-DNS hibridek sejtszintű lokalizációját kettős immunfluoreszcens jelöléssel végeztük anti-GFP és az RNS-DNS hibridet specifikusan felismerő antitestekkel. (B) A kolokalizáció mértékének kvantifikálása Pearson és Manders' korrelációs koeficienssekkel történt. megf.=számított érték, rnd=randomizált érték. Manders1= Az RNS-DNS hibridek AtNDX fehérjével átfedő részét definiálja, Manders2=Az AtNDX RNS-DNS hibridekkel átfedő részét definiálja. (C) A ChIP szekvenálás alapján megállapított AtNDX és a DRIP szekvenálás alapján definiált RNS-DNS hibridek átfedését bemutató Venn diagramm. (D) AtNDX és RNS-DNS hibrid szekvenálási profil az FLC lókuszt területén. A szekvenálás két független biológiai replikátummal történt. A qPCR-ral történő validálás során az FLC lókuszt i és e régióit vizsgáltuk.

AtNDX és RNS-DNS hibrid kötőhelyek a teljes genom szintjén

Az AtNDX és RNS-DNS hibridek pontos kötőhelyeit a teljes genom szintjén ChIP-seq és DRIP-seq módszerekkel határoztuk meg. A FLAG-AtNDX és DNS-RNS immunprecipitáció során nyert DNS fragmentumokat Illumina platformon szekvenáltuk, majd a kötőhelyeket HOMER peak keresési algoritmussal azonosítottuk [12]. DiffBind analízis segítségével [13] közös és differenciális kötőhelyeket határoztunk meg (1. ábra C), amely 9611 AtNDX és 25.682 RNS-DNS hibrid kötőhelyet eredményezett; ezek közül 2631-et azonosítottunk közös kötőhelyként. Az AtNDX peak-ek 27,38%-a mutatott átfedést az RNS-DNS hibridekkel, míg az RNS-DNS hibridek estén az összes peak 10,34 %-a fedett át az AtNDX fehérje kötőhelyeivel. A kötőhelyeket a referencia FLC lókuszt 2.

exonján (*i* régió) és a terminális régióban (*e* régió) qPCR módszerrel validáltuk (1. ábra D). A korábban publikált eredményekhez hasonlóan az *FLC* lókuszt *i* szubregiójában a mi kísérleteink is azonosították az R-loop struktúra és az AtNDX fehérje együttes előfordulását.

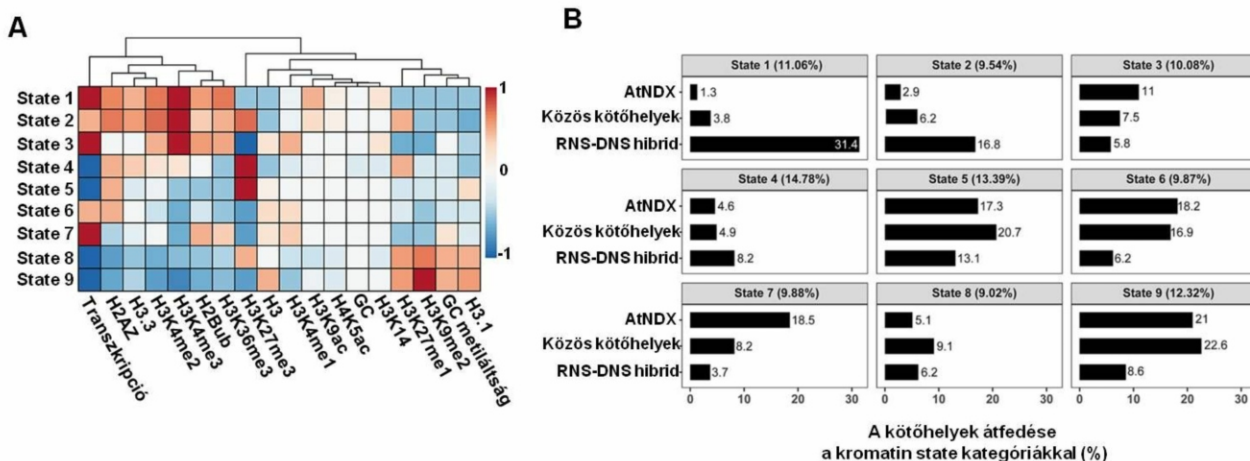
A továbbiakban az AtNDX és RNS-DNS hibridekhez köthető genomi funkciók funkcionális annotációját végeztük el. Az egyedi és közös kötőhelyek egyaránt dúsultak a géneken és az exonokon is. Emellett az R-hurok specifikus kötőhelyek a promoter és a splice junction (exon-intron határ) régiókhoz kötődtek, míg a közös AtNDX és RNS-DNS hibridek a géneken és promotereken túl jellemzőek voltak a splice junction régiókban is. Megfigyeléseink egybecsengenek más csoportok eredményeivel, amelyek humán és egér sejtekben igazolták az RNS-DNS hibridek promoter régiókhoz köthetőségét [2, 14].

Az AtNDX és az RNS-DNS hibridek különböző kromatin állapotokra jellemzőek

Egy a közelmúltban publikált munka átfogó epigenetikai jellemzést készített az *Arabidopsis* genomról, amelyben kilenc különböző funkcionális kromatin állapotot (chromatin state) írtak le [15]. Ezen kromatin állapotokat definiáló epigenetikai jellegzetességeket és a state-ekre jellemző transzkripciós aktivitást a 2. ábra A részén bemutatott hőtérkép alapján szemléltetjük. A *state 1*-et aktív transzkripció jellemzi. A kromatinra a H3K4me3 és H3K4me2, H3K36 metiláció mellett jellemző a H2 hiszton ubikvitinációja, a H3.3, H2AZ hiszton variánsok és a H3K9 acetiláció. A *state 2*-ben szintén az aktív jelek dominálnak, azonban megjelenik a represszív H3K27me3 jel is. A *state 3*-re jellemzőek a H3K4me1, a H2B hiszton ubikvitinációja, a H3K36me3, H3K4me2, és H3K4me3. A transzkripció aktív, ezzel összefüggésben a represszív H3K27me3 jel mennyisége alacsony. A *state 4* a *state 2*-vel mutat hasonlóságot, itt azonban az aktív jelek kevésbé jellemzőek és erős a represszív H3K27me3 jel. A *state 5* a Polycomb csendesített kromatin, amelyben erős a represszív H3K27me3 jel. A *state 6* és *7* kromatin állapotok a gének kódoló területén jellemző (a *state 7* magasabb

transzkripció aktivitást mutat és H3K4me1, H2B ubikvitináció, és H3K36me3-val jellemzi). A *state 8* és *9* a kromoszómák heterokromatikus területei, amelyekben az aktív transzkripciót jellemző jelek hiányoznak. A *state 8*-hoz AT gazdag területek tartoznak, míg a *state 9* a kromoszómák GC gazdag pericentromer régióira jellemző.

A továbbiakban az egyedi és közös AtNDX és RNS-DNS kötőhelyek átfedését vizsgáltuk a különböző kromatin állapotokkal, amely alapján az az AtNDX és RNS-DNS hibridekre az alábbi state-ek előfordulása volt jellemző (2. ábra B). (1) Az egyedi AtNDX kötőhelyek a heterokromatikus *state 9*-re, és az aktív transzkripciót mutató *state 6* és *7*-re jellemzőek. (2) Az egyedi RNS-DNS hibrid kötőhelyek az aktív génexpresszióval jellemzett eukromatikus *state 1* és *2*-ben dúsulnak. (3) A közös AtNDX & R-loop kötőhelyek a Polycomb csendesített *state 5*-re, az aktív génexpresszióval jellemzett *state 6*-ra és a heterokromatikus *state 9*-re jellemző.



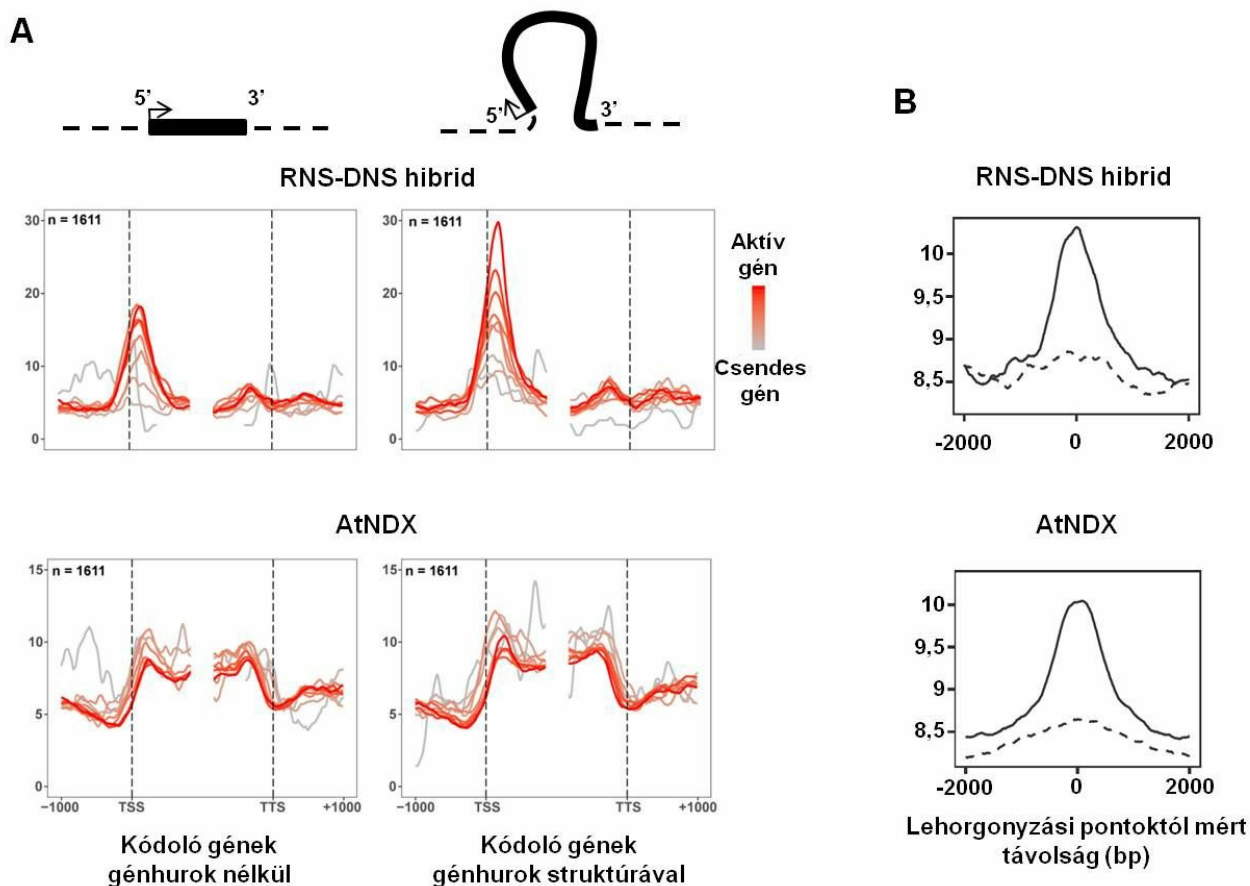
2. ábra. Az AtNDX és RNS-DNS hibrid kötőhelyek átfedése különböző kromatin állapotokkal. (A) A Sequeira-Mendes és munkatársai által megállapított 9 különböző kromatin állapotot (*state*) bemutató hő térkép az egyes *state*-eket definiáló epigenetikai jellemzőkkel és transzkripció aktivitásukkal [15]. A színskála az egyes jellemzők előfordulásának a gyakoriságát jelzi. (B) Az egyedi és közös AtNDX és RNS-DNS kötőhelyek átfedése a különböző kromatin állapotokkal.

Az AtNDX és RNS-DNS hibridek funkcionális kapcsolata a térbeli kromatinszerkezettel

Az *A. thaliana* genom térbeli szerkezete ún. kromatin konformáció „capture” módszerekkel (pl. Hi-C) vizsgálható és rekonstruálható [16]. A Hi-C módszerrel kromoszómákon belüli térbeli interakciók, valamint a kromatin- és génhurkokkal összefüggő transzkripció aktivitás vizsgálható a teljes genomban [17]. A Hi-C térkép alapján a kromatin hurkokra (≥ 6 kb) egy represszív hiszton módosítás, a H3K27me3 jellemző. A módszer nagy felbontásának köszönhetően a gének szintjén is azonosíthatunk térbeli interakciókat (gén-hurkok), amelyek a gének 5'-3' szakasza között jönnek létre. Vizsgálataink során a Hi-C módszer alapján megállapított, gén-hurkot formáló és gén-hurkokat nem alkotó, gének pozícióit összevetettük az AtNDX és RNS-DNS hibridek kötőhelyeivel. Ezen felül a gének transzkripció aktivitását is összefüggésbe hoztuk a DRIP és ChIP mintázatokkal (3. ábra A). Megállapítottuk, hogy az RNS-DNS hibridek az aktív génekkel asszociáltak és jellemzőbbek a gén-hurkot alkotó gének promoter régióiban. Ez összecseng az *S. cerevisiae* *GAL10* gén területén megfigyelt hasonló eredménnyel [18], amely szerint *GAL10* promoter és terminátor régiója között kialakuló gén-hurok konformáció létrejöttéhez egy R-hurok struktúra jelenléte szükséges. Az AtNDX előfordulása viszont független volt a gén-hurok konfiguráció jelenététől, és jellemzően az alacsonyabb transzkripció szintű génekhez volt köthető (3. ábra A). Továbbá megállapítottuk, hogy az AtNDX és az RNS-DNS hibridek is kötődnek a nagy térbeli kromatin doméneket (TAD-like regions) elhatároló régiókhoz. A 3. ábra B részen látható, hogy az RNS-DNS hibridek és az AtNDX kötőhelyek a nagy kromatin hurkok lehorgonyzási pontjaiban dúsulnak, amely arra utal, hogy mindkét szerkezet valamilyen határoló funkciót tölthet be a kromatin háromdimenziós szerveződésében.

Következtetés

Kutatómunkánk során elsőként vizsgáltuk az RNS-DNS hibrid struktúrák előfordulását az *Arabidopsis* genomban. Feltérképeztük az AtNDX és RNS-DNS hibridek együttes előfordulását egyedi sejtek szintjén és a teljes genomra kiterjedően is.



3. ábra. (A) Az RNS-DNS hibridek az aktív génekkel asszociáltak és jellemzőbbek a gén hurkot alkotó gének promoter régióiban. Az AtNDX előfordulása független a gén-hurok jelenlététől és az alacsonyabb transzkripciós szinttel jellemzett génekhez köthető. (B) Az RNS-DNS hibrid és az AtNDX dúsulása a kromatin hurkok lehorgonyzási pontjaiban.

Eredményeink alapján azt a következtetést vontuk le, hogy az AtNDX fehérje részt vesz az RNS-DNS hibridek stabilizálásában, emellett az alacsonyabb génexpresszióval jellemzett és heterokromatikus régiókra jellemző. Az AtNDX és RNS-DNS hibridek térbeli kromatinszerkezet kialakításában betöltött szerepét vizsgálva megállapítottuk, hogy mindkét struktúra térbeli határoló funkciót láthat el. Az RNS-DNS hibridek az aktív génexpresszióval jellemzett, rövidebb interakciókra – gén-hurkokra - jellemzőek, míg az AtNDX feltételezhetően az átfogóbb (long-range) kromatin hurkokat szabályozzák.

Köszönetnyilvánítás

A bioinformatikai számításokat Halász László és Karányi Zsolt végezték. Köszönettel tartozunk az MTA-DE Genomszerkezet és Rekombináció Kutató-

csoport további munkatársainak, Hetey Szabolcsnak, Fürtös Ibolyának, Kuik-Rózsa Tímeának, Boros-Oláh Beátának, Petrucz Anitának, valamint kollaborációs partnereinknek, Máthé Csabának és Garda Tamásnak (Debreceni Egyetem, Növénytan Tanszék), Csorba Tibornak (Mezőgazdasági Kutatóintézet, Gödöllő), valamint Caroline Dean munkacsoportjának (John Innes Centre, Norwich, UK) a rendelkezésünkre bocsájtott növényi mintákért.

Irodalomjegyzék

- [1] Drolet, M., Bi, X., Liu, L.F. (1994) Hypernegative supercoiling of the DNA template during transcription elongation in vitro. *Journal of Biological Chemistry*, **269**: 2068-2074.
- [2] Ginno, P., Lott, P.L., Christensen, H.C., Korf, I., Chédin, F. (2012) R-Loop Formation Is a Distinctive Characteristic of Unmethylated Human CpG Island Promoters. *Molecular Cell*, **45**: 814–25.
- [3] Bhatia, A., Yadav A., Zhu, C., Gagneur, J., Radhakrishnan A, Steinmetz L.M., Bhanot, G., Shina, H. (2014) Yeast growth plasticity is regulated by environment-specific multi-QTL interactions. *G3 (Bethesda)* **4**: 769–77.
- [4] Székvölgyi, L., Rákossy, Z., Bálint, B.L., Kókai, E., Imre, L, Vereb, G., Bacsó, Z., Goda, K., Varga, S., Balázs, M., Domrádi, V., Nagy, L., Szabó, G. (2007) Ribonucleoprotein masked nicks at 50-kbp intervals in the eukaryotic genomic DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **104**: 14964–9.
- [5] Aguilera, A., García-Muse, T. (2012) R loops: from transcription byproducts to threats to genome stability. *Molecular Cell*, **46**: 115-24.
- [6] Pohjoismäki, J.L., Holmes, J.B., Wood, S.R., Yang, M.Y., Yasukawa, T., Reyes, A., Bailey L. , Cluett T.J., Goffart, S., Willcox, S., Rigby, R.E. Rigby, E., Jackson, A.P., Spelbrink, J.N., Griffith J.D., Crouch R.D., Jacobs, HT., Holt, I.J. (2010) Mammalian mitochondrial DNA replication intermediates are essentially duplex but contain extensive tracts of RNA/DNA hybrid. *Journal of Molecular Biology*, **397**: 1144-1155.

- [7] Richard, P., Manley, J.L. (2016) R loops and links to human disease. *Journal of Molecular Biology*, in press.
- [8] Sun, Q., Csorba, T., Skourti-Stathaki, K., Proudfoot, N.J., Dean, C. (2013) R-loop stabilization represses antisense transcription at the Arabidopsis FLC locus. *Science*, **340**: 619–21.
- [9] Boguslawski, S.J., Smith, D.E., Michalak, M.A., Mickelson, K.E., Yehle, C.O., Patterson, W.L., Carrico, R.J. (1986) Characterization of monoclonal antibody to DNA-RNA and its application to immunodetection of hybrids. *Journal of Immunological Methods*, **89**: 123–30.
- [10] Pasternak, T., Tietz, O., Rapp, K., Begheldo, M., Nitschke, R., Ruperti, B., Palme, K. (2015) Protocol: an improved and universal procedure for whole-mount immunolocalization in plants. *Plant methods*, **11**: 1.
- [11] Dunn, K.W., Kamocka, M.M., McDonald, J.H. (2011) A practical guide to evaluating colocalization in biological microscopy. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, **300**: 723–742.
- [12] Li H., Handsaker B., Wysoker A., Fennell T., Ruan J., Homer N., Marth, G., Abecasis, G., Durbin, R. (2011) The sequence alignment/Map format and SAMtools. *Bioinformatics*, **25**: 2078–9.
- [13] Ross-innes, C.S., Stark, R., Teschendorff, A.E., Holmes K., Raza Ali, H., Dunning, M.J., Brown, G.D., Gojis, O., Ellis, I.O., Green, A.R., Ali, S., Chin, S.F., Palmieri, C., Caldas, C., Carroll, J.S. (2012) Differential oestrogen receptor binding is associated with clinical outcome in breast cancer. *Nature*, **481**: 389–93.
- [14] Sanz, L.A., Hartono, S.R., Lim, Y.W., Steyaert, S., Rajpurkar, A., Ginno, P.A., Chédin, F. (2016) Prevalent, dynamic, and conserved R-loop structures associate with specific epigenomic signatures in mammals. *Molecular Cell*, **63**: 167–178.
- [15] Sequeira-Mendes, J., Aragüez, I., Peiró, R., Mendez-Giraldez, R., Zhang, X., Jacobsen, S.E., Bastolla, U., Gutierrez, C. (2014) The Functional Topography of the Arabidopsis Genome Is Organized in a Reduced Number of Linear Motifs of Chromatin States. *Plant Cell*, **26**: 2351–66.

- [16] Liu, C., Wang, C., Wang, G., Becker, C., Zaidem, M., Weigel, D. (2016) Genome-wide analysis of chromatin packing in *Arabidopsis thaliana* at single-gene resolution. *Genome Research* gr.204032.116
- [17] Van Berkum, N.L., Lieberman-Aiden, E., Williams, L., Imakaev, M., Gnirke, A., Mirny, L.A., Dekker, J., Lander, E.S. (2010) Hi-C: a method to study the three-dimensional architecture of genomes. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, **39**: e1869-e1869.
- [18] Cloutier, S.C., Wang, S., Ma, W.K., Al Husini, N., Dhoondia, Z., Anari, A., Pascuzzi P.E., Tran, E.J. (2016) Regulated formation of lncRNA-DNA hybrids enables faster transcriptional induction and environmental adaptation. *Molecular Cell*, **61**: 393-404.



Mosolygó-Lukács Ágnes a Debreceni Egyetemen diplomázott biológus-biotechnológus és ökológusként 2010-ben. Doktori munkáját a Debreceni Egyetem Növényteni Tanszékén készítette növényi molekuláris taxonómia és filogenetika területén, doktori értekezését 2016-ban védte meg. 2015-től új tudományterületen folytatta kutatómunkáját, csatlakozva az MTA-DE Genomszerkezet és Rekombináció Kutatócsoporthoz. Kutatómunkája a genom térszerkezet vizsgálatára irányul *Arabidopsis*, élesztő és humán modell-szervezetekben. A növényektől egy növényökológus férj révén szabadulni sem tudna, így szabadidejében családjával együtt a természetben kapcsolódnak ki.



Székvölgyi Lóránt kutatócsoport vezető. Csoportjával a kromoszómák térszerkezetét és a homológ rekombináció útvonalait vizsgálják emberi, élesztő és lúdfű modellszervezetekben. Kutatásait az MTA, a Debreceni Egyetem ÁOK, az NKFIH, az ICGEB, az EU keretprogramjai és az IMéRA (Institut d'études avancées) támogatja. 2015 szeptemberétől MTA Lendület támogatással kutatja a magasabbrendű kromatinszerkezet kialakulásának epigenetikai tényezőit és sejtes örökölhetőségét. Posztdoktori éve alatt többször járt vendégkutatóként és tanulmányúton Franciaországban (Institut Curie, Paris; Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille) és Németországban (DKFZ, Heidelberg). Egyetemi éve alatt (1996-2002, molekuláris biológus szak/biokémia szakirány) Borbély György és Sipiczki Mátyás professzorok előadásai meghatározóak voltak későbbi kutatómunkája szempontjából, akik egy teljesen újfajta molekuláris szemléletet „importáltak” Szegedről (SZBK) Debrecenbe (DE TTK). A legfontosabb életbölcsséget a Kodály Zoltán zenei általános iskolában (1984-1992, Salgótarján) Szilágyi László tanár úrtól tanulta (éneke, kamarazene): „Angol hidegvér és tűzálló pofaszakáll!”.