

OTKA zárójelentés

PD-72008 – *Mycobacterium tuberculosis* dUTPase as a tool in disease control: functional ablation, enzymatic mechanism and selective perturbation

Projektidőszak: 2008.09.01-2012.08.31 (magában foglal 1 év gyermekgondozás miatti szüneteltetést)

Témavezető: Dr. Tóth Judit, MTA TTK Enzimológiai Intézet

1. A projekt eredményességének mutatói

Az OTKA pályázat támogatásának felhasználásával 10 közlemény jelent meg nemzetközi referált folyóiratokban. Az ezekben közzétett eredmények a még közlés alatt álló eredményekkel együtt maradéktalanul teljesítik a pályázatban megfogalmazott célkitűzéseket. A publikációkban az OTKA pályázat, mint támogatási forrás 9 esetben feltüntetésre került (tapasztalatlanság miatt sajnos az első cikkből kimaradt, pedig az szervesen a témához kapcsolódik). A megjelent cikkek összesített impakt faktora: 67,481. A 10-ből 6 cikkben a témavezető első/utolsó/levelező szerző (ezek összesített impakt faktora 48,741). További két kézirat véleményezés alatt, négy kézirat pedig közvetlenül beküldés előtt illetve a szövegezési fázisban áll (felsorolás szerzőkkel és címmel a 4. fejezetnél található).

Szintén az OTKA projekt témájából és a vezető kutató témavezetésével született

- 1 PhD disszertáció: Pécsi Ildikó, 2012 ELTE Szerkezeti Biokémia Program http://www.doktori.hu/index.php?menuid=192&sz_ID=7749)
- OTDK III. helyezés: Lopata Anna, Kémiai és Vegyipari szekció 2009
- OTDK I. helyezés: Lopata Anna, Kémiai és Vegyipari szekció 2011
- OTDK II. helyezés: Szabó Judit Eszter, Biológia szekció 2011.

Lopata Anna a TDK versenyeken elért kiváló eredményeiért Pro Scientia Aranyéremben is részesült.

2. A projekt célkitűzése

A dUTPáz a dUTP difoszforolízisét katalizálja, és ezzel szabályozza a sejtekben a dUTP:dTTP nukleotid arányt, ezen keresztül pedig az uracil DNS-be való beépülésének mértékét. A DNS-be épülő nagy mennyiségű uracil következménye sejthalál is lehet. Ezért nagy tudományos érdeklődésre tart számot a dUTPáz gátlásán alapuló új rákellenes, antivirális és antituberkulózis gyógymódok kutatása. Jelen pályázat fókuszában a *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) dUTPáz állt, amelyről a dTTP szintézisben betöltött központi szerepe miatt azt a hipotézist állítottuk fel, hogy hiányában a baktérium életképtelen. A pályázat fő célkitűzései ezek voltak:

1. a *Mycobacterium* túlélésének vizsgálata a dUTPáz működésének hiányában
2. a MTB dUTPáz enzim mechanizmusának felderítése különös tekintettel a humán (gazda) és MTB (patogén) enzimek közötti különbségekre
3. a MTB és humán dUTPázokat leginkább megkülönböztető két szerkezeti elem, a C-terminális kar és a központi csatorna, katalízisben betöltött szerepének meghatározása.

A fenti célok megvalósításához számos gyorskinetikai valamint egyensúlyi enzimológiai és spektroszkópiai módszert alkalmaztunk vad típusú és hely specifikusan módosított MTB és humán dUTPáz enzimeken. A dUTPáz funkcióvesztés (feltehetően letális) hatását irányított géncserével történő génkiütéssel egy nem-patogén *Mycobacterium* modellben vizsgáltuk.

3. Főbb eredmények az egyes célkitűzések szerint

3.1 A dUTPáz kiütés hatása a *Mycobacterium* életképességére, gyógyszerkézpontok kijelölése

Nagy eredménynek tartom, hogy sikerült meghonosítani egy jól működő mikobakteriális modell rendszert a témavezető kutatóhelyén. A nem-fertőző *Mycobacterium smegmatis* faj laboratóriumi kultiválását és genetikai manipulációját ma már rutinszerűen végezzük. Ez nagyrészt Pécsi Ildikó volt hallgatónak köszönhető, aki egy EMBO Short Term Fellowship támogatásával a technológiát

Angliából importálta. Az új rendszer beállításával járó kezdeti nehézségek miatt a pályázat futamidejének vége felé jutottunk el a projekt egyik sarokkövének, a dUTPáz mikobaktériumbeli létfontosságának leközléséig (4.1 / 1. cikk, Pécsi és mtsi PLoS One 2012). Az endogén dUTPáz gént kicseréltük egy elrontott dUTPáz szekvenciára, amely egy működő szelekciós markert is tartalmazott. Ez a rekombinációval történő csere csak akkor eredményezett életképes sejteket, ha a kromoszóma egy másik szakaszára bevittünk egy menekítő dUTPáz gént egyértelműen jelezve, hogy az intakt dUTPáz jelenléte életfontosságú a *Mycobacterium smegmatis* számára. Szintén végeztünk egy genomikai analízist a pirimidin nukleotid anyagcserében részt vevő enzimekre fókuszálva az összes ismert mikobaktérium genom bevonásával. Ennek eredménye szerint ezen nukleotidok anyagcseréje erősen konzervált a *Mycobacterium* rendben, ezért megállapításaink valószínűleg az összes, veszélyes patogéneket is nagy számban felsoroló, fajra érvényesek. Megállapítottuk továbbá, hogy a dUTPáznak az enzimaktivitáson kívül egyéb, a mikobaktériumokra specifikus dUTPáz szerkezeti elemén keresztül megvalósuló szerepe is van. Legérdekesebb felfedezésünk szerint ez a jelenleg ismeretlen funkció okozza a dUTPáz létfontosságát, és nem a dUTPáz enzimaktivitása. A mikobaktérium-specifikus szerkezeti elemmel rendelkező, de inaktív dUTPáz-t hordozó mutáns törzs stresszmentes körülmények között megkülönböztethetetlen a vadtypustól, míg e szerkezeti elem hiányában az *in vitro* jól működő enzim letalitást okoz. Ezzel a felfedezéssel egy nagyon specifikus és potenciálisan hatékony antituberkulózis célpontot tudtunk javasolni. Ugyanebben a témakörben született egy kollaboratív munka is, amely újszerű, a doménösszetételén, és nem a kisszámú fajspecifikus fehérjén alapuló, stratégiát javasol az új tuberkulózis célpontok kiválasztására (4.1 / 4. cikk, Mészáros és mtsi. PLoS Comput Biol 2011).

Az az eredmény, miszerint az inaktív enzimet hordozó bakteriális törzsünk életképes, útjára indította az ú.n. *in vivo enzimológia* témánkat, amelyben az *in vitro* már karakterizált dUTPáz mutációkat hordozó *Mycobacterium smegmatis* törzseket állítottunk elő, és ezekben vizsgáljuk az enzimaktivitás korrelációját a sejtek nukleotid összetételével, stresszre való reakciójával, uracil-DNS tartalmával és egyéb mérhető paramétereivel. Reményeink szerint a dUTPáz enzimhatás molekuláris mechanizmusát a DNS anyagcserében eddig nem ismert részletekben fogjuk megismerni.

3.2 A MTB és humán dUTPázok enzimaktivitás mechanizmusa

A projektidőszak elején egy hiánypótló munkában összefoglaltuk saját és irodalmi adatok alapján a dUTPázok működési mechanizmusát, rámutatva a dUTPáz enzimműködés egyetemes konzerváltságára és a potenciális szerkezeti különbségekre (4.1 / 10. cikk, Vértessy és Tóth ACR 2009).

Kimutattuk, hogy a dUTPáz enzim jól ismert konzervált motívumai közötti kölcsönhatások kulcsfontosságúak az enzim hatékonyságának szempontjából. Ezek a motívumok alakítják ki három aleggység határán az enzim aktív helyét. Eddig azt lehetett tudni róluk, hogy a szubsztráttal való kölcsönhatásaik miatt fontosak, de újdonságként azt tapasztaltuk, hogy akár egy H-kötés megváltoztatása a konzervált motívumok között végzetes hatással bír az enzimaktivitásra nézve (4.1 / 8. cikk, Takács és mtsi, FEBS Lett 2010).

Egy fontos célkitűzésünk volt a homotrimer enzimen belüli allosztérikus és korábban javasolt kooperatív viselkedés vizsgálata. Ez az enzim potenciális szabályozása és mesterséges gátlása szempontjából volt érdekes. Azért, hogy aszimmetrikus homotrimerben csak egy-egy aleggységre ható mutációkat tudjunk létrehozni, kovalens pszeudotrimer dUTPáz konstrukciókat terveztünk, amelyeket sikeresen termeltünk az *E. coli* rekombináns fehérjeexpressziós rendszerben. Megállapítottuk, hogy a 3 kovalensen összekapcsolt monomer jó modellje a vadtypusú enzimnek, azonos katalitikus hatékonysággal bír, illetve fluoreszcens tulajdonságai is közel megegyeznek az előzőekben részletesen vizsgált trimerével. A különböző mutáns enzimek hidrolízis reakcióinak kinetikai és egyensúlyi paramétereit meghatároztuk. Eredményeink arra engednek következtetni, hogy a dUTPáz aleggységek egymástól függetlenül, tehát nem-kooperatív módon működnek, szemben a

hasonló szerkezettel rendelkező és ugyanebbe a családba tartozó bifunkciós dCTP dezamináz-dUTPázokkal. Utóbbiak aktivitását a bioszintézis útvonal eredményeként termelődő dTTP közvetlenül negatív feedback mechanizmussal szabályozza, a kooperativitás is csak dTTP jelenlétében nyilvánul meg. A dUTPáz enzimeknél ugyanakkor ilyen feedback szabályozás nem ismert, ezzel függhet össze, hogy a funkció betöltéséhez a kooperatív viselkedés feltehetően nem hordoz előnyöket. Következtetésünk tehát az, hogy több-alegységes enzimekben a kooperatív viselkedést a funkció hívja életre egy adott szerkezeti felépítményben, ezért bármennyire intuitív is maga a szerkezet, abból a kooperativitásra önmagában nem következtethetünk. Az ebben a témában született kézirat beküldés előtt áll (4.3 / 2. cikk, Szabó és mtsi).

Egy speciális molekuladinamikai módszerrel (Random Acceleration Molecular Dynamics) kombinált kinetikai projektünk eredményeképpen teljesen új mechanizmust javasolunk a dUTPáz szubsztrátkötésére, amely relatíve zárt aktívhelyen valósul meg. Ezt „strip door”, azaz „hőfüggöny” vagy „szalagfüggöny” mechanizmusnak neveztük el azért, mert az aktívhelyet az oldattól elzáró polipeptidlánc kis amplitúdójú és random irányú fluktuációját kihasználva közlekedik a nukleotid szubsztrát illetve termék az aktívhely és az oldat között. Ez a mechanizmus magyarázza leginkább azt a két, látszólag ellentmondó tényt, hogy a szubsztrát nélküli kristályszerkezetekben az aktívhely mindig nyitottnak, míg spektroszkópiailag ilyenkor is viszonylag zártnak tűnik. A kristályszerkezetben ez az elem tehát valószínűleg a kis amplitúdójú fluktuáció miatt nem látszik, nem pedig azért, mert a polipeptidlánc teljesen nyitva hagyja az aktívhelyet és az oldatban precesszál (4.2 / 1. cikk, Lopata és Mtsi, bírálat alatt a NAR-ban).

Végül a kemoterápiai alkalmazású fluoro-uracil (5FU) fiziológiás hatásának vizsgálatát egészítettük ki az dUTPáz általi 5FdUTP hidrolízis részletes kinetikai analízisével (4.2 / 3. cikk, Merényi és mtsi NNN 2011). Ismeretes, hogy az 5FdUMP a timidilát szintáz potens gátlószere, ezáltal citosztatikus hatást fejt ki. Azt találtuk, hogy az 5FdUTP a dUTPáz tökéletes szubsztrátja, azt hatékonyan képes 5FdUMP-re és PPI-re hasítani. Az uracil gyűrűn a H → F csere annyi változást eredményez a kinetikai paraméterekben, hogy a szubsztrát kötést 2x lassabbá, míg a katalízishez kompetens konformáció kialakulását 2x gyorsabbá teszi. Az 5FdUMP általi termékgtátlás a dUTPázban gyengébb, mint a szubsztituátlan dUMP esetében. Ennek alapján azt javasoltuk, hogy a dUTPáz az 5FU által kifejtett fiziológiai hatásban kettős szerepet játszik: egyrészt előállítja a timidilát szintáz inhibitorát, az 5FdUMP-t, másrészt megakadályozza, hogy az 5FdUTP a DNS-be épüljön.

3.3 A MTB és humán dUTPázokat leginkább megkülönböztető két szerkezeti elem, a C-terminális kar és a központi csatorna, katalízisben betöltött szerepének meghatározása

A C-terminális kar tematikához kapcsolódóan megjelent Pécsi és mtsi (PNAS 2011, 4.1 / 5. cikk,) munkánk az általános enzimműködés és enzimevolúció szempontjából is érdekes eredményeket mutat be. Megmutattuk, hogy a nukleotid difoszfátok (pl. DNS és RNS polimerázok, ligázok) között a dUTPázok egyedi stratégiát alkalmaznak a nemszubsztrát dNDP és a szubsztrát dNTP megkülönböztetésére. Nevezetesen egy P-loop- vagy Walker A- szerű motívumot, amely a hasonlóan jól kötődő di- és trifoszfátokat kinetikailag különbözteti meg egymástól. Érdekes, hogy ez a széleskörűen elterjedt motívum az enzimek funkcionális adaptációja során többször is létrejött hasonló és eltérő funkciókkal egyaránt.

Kimutattuk továbbá, hogy az enzim és szubsztrátja között létrejövő aromás kölcsönhatás közvetlenül befolyásolja a nukleotid hidrolízist azáltal, hogy az átmeneti állapot elektrongazdag szerkezetét stabilizálja. A molekuláris felismerésben oly nagy szerepet játszó aromás kölcsönhatások katalízisben betöltött szerepét eddig csak oxidoredukciós enzimekben vizsgálták, más fehérjékben kizárólag az intra- és intermolekuláris kölcsönhatások kialakításában implikálták őket. A mi eredményeink arra utalnak, hogy hidrolázokban is a katalízis egyik általános motorja lehet az aromás vagy π - π kölcsönhatás (4.1 / 9. cikk, Pécsi és mtsi, NAR 2010)

A dUTPáz alegységeinek kölcsönhatásait az előző fejezetben kifejtett eredmények mellett erre a projekt célra vonatkozóan is vizsgáltuk. A kutatást kiterjesztettük a dUTPáz szupercsaládra, amely

hasonló szerkezetű, de a timidilát anyagcserében eltérő szerepet játszó enzimeket foglal magában. Azt találtuk, hogy a kooperativitás hiánya a dUTPáz enzimmechanizmusában összefügg a dUTPáz nagy szubsztrát specifitásával. A szupercsalád kooperatív tagjaiban megfigyelhető allosztérikus hurok módosulása a felelős a szűk és specifikus aktívhelyért a dUTPázokban, amely együtt jár a központi csatorna megváltozásával így megakadályozva a fehérjecsaládban megfigyelt, a csatornán keresztül megvalósuló allosztérikus mechanizmust. A dUTPázok csatornája alapvetően kétféle módon változott meg a szupercsalád kooperatív tagjaiéhoz képest. Az eukarióta és virális dUTPázok javarészt Mg^{2+} -kötéssel stabilizálják a központi csatornájukat, amely így nem enged teret egy globális kooperatív konformáció változásnak. A bakteriális dUTPázok azonban más stratégiával stabilizálják és szűkítik be központi csatornájukat: egy erősen hidrofób belső felszínnel. Ez a szerkezeti változás magasabb olvadáspontban (T_m) is megnyilvánul. Ezeket az eredményeket is a Szabó és mtsi (4.3 / 2. cikk) közleményben kívánjuk nyilvánosságra hozni.

3.4 Kollaborációk

E helyütt kívánom röviden bemutatni azokat az eredményeket, amelyek ugyan nem tartoznak szorosan az eredetileg megjelölt célokhoz, de a kutatásainkból gyökereznek és hozzájárultak az OTKA projekt sikeres megvalósításához.

Az általunk elvégzett biokémiai kísérletek hozzájárultak a dUTPáz hiányában módosuló transzkripció útvonala feltárásához a *C. elegans* egyedfejlődése során. A dUTPáz csendesítése arra világított rá, hogy egyes transzkripció faktorok autofág és apoptotikus folyamatokat egyaránt szabályoznak, ezáltal ez a két alapvető sejthalál mechanizmus összehangoltan működik a morfogenezis során (4.1 / 2. cikk, Erdélyi és mtsi. J Cell Sci 2011).

Egy másik, a dUTPázról távolabbi kollaboratív témában két publikáció született 2010-ben, az egyik nagy részben kinetikai mérésimen alapul. Ez a téma sokban hozzájárult a tranziens kinetikai tapasztalatszerzéshez, amelyet aztán a későbbiekben más témákban is kamatoztattunk. Nagyon érdekes és újszerű eredményeket kaptunk, amelyek a calmodulin (CaM), mint általános Ca^{2+} szenzor molekula új szabályozására mutatnak rá. Kimutattuk, hogy az SPC szfingolipid a CaM kompetitív inhibitora, arról a Ca^{2+} -jelátvitelben szereplő CaM-kötő célpeptideket képes lezorítani. Ennek a kompetitív mechanizmusnak a kvantitatív kinetikai és termodinamikai modelljét elkészítettük (4.1 / 6. cikk, Kovács és mtsi, JBC 2010). A CaM-SPC kölcsönhatást szerkezetileg is jellemeztük egy egyedülálló fehérje-lipid kristályszerkezet segítségével (Harmat Veronika érdeme), amely eredmények termodinamikával és kinetikával történő szintézise egy egészen kerek képet nyújt arról, hogy az SPC molekula hogyan töltheti be korábban leírt, de meg- nem-értett másodlagos hírvívő funkcióját (4.1 / 7. cikk, Kovács et al, FASEB J 2010).

4. A projektből származó publikációk

4.1 Nemzetközi referált folyóiratban megjelent publikációk

1. Pecsí I, Hirmondo R, Brown AC, Lopata A, Parish T, Vertessy BG and **Tóth J** (2012)
The dUTPase Enzyme Is Essential in Mycobacterium smegmatis.
PLoS ONE **7**, e37461.
If.: 4.092
2. Erdélyi P, Borsos E, Takács-Vellai K, Kovács T, Kovács AL, Sigmond T, Hargitai B, Pásztor L, Sengupta T, Dengg M, Pécsi I, **Tóth J**, Nilsen H, Vértessy BG and Vellai T (2011)
Shared developmental roles and transcriptional control of autophagy and apoptosis in *Caenorhabditis elegans*.
J Cell Sci **124**, 1510-8.
If.: 6.111

3. Merényi G, Kovári J, **Tóth J**, Takács E, Zagyva I, Erdei A and Vértessy BG (2011)
Cellular Response to Efficient dUTPase RNAi Silencing in Stable HeLa Cell Lines Perturbs Expression Levels of Genes Involved in Thymidylate Metabolism.
Nucleos Nucleot Nucl **30**, 369-90.
If.: 0.899
4. Mészáros B, **Tóth J**, Vértessy BG, Dosztányi Z and Simon I (2011)
Proteins with Complex Architecture as Potential Targets for Drug Design: A Case Study of Mycobacterium tuberculosis.
PLoS Comput Biol **7**, e1002118.
If.: 5.215
5. Pécsi I, Szabó JE, Adams SD, Simon I, Sellers JR, Vértessy BG and **Tóth J** (2011)
Nucleotide pyrophosphatase employs a P-loop-like motif to enhance catalytic power and NDP/NTP discrimination.
P Natl Acad Sci Usa **108**, 14437-14442.
If.: 9.681
6. Kovacs E*, **Tóth J***, Vértessy BG and Liliom K (2010)
Dissociation of calmodulin-target peptide complexes by the lipid mediator sphingosylphosphorylcholine: implications in calcium signaling.
J Biol Chem **285**, 1799-808.
*equal contribution
If.: 5.328
7. Kovacs E, Harmat V, **Tóth J**, Vértessy BG, Módos K, Kardos J and Liliom K (2010)
Structure and mechanism of calmodulin binding to a signaling sphingolipid reveal new aspects of lipid-protein interactions.
FASEB J **24**, 3829-39.
If.: 6.515
8. Takács E, Nagy G, Leveles I, Harmat V, Lopata A, **Tóth J*** and Vértessy BG* (2010)
Direct contacts between conserved motifs of different subunits provide major contribution to active site organization in human and mycobacterial dUTPases.
FEBS Lett **584**, 3047-54.
*shared corresponding authors
If.: 3.601
9. Pecs I, Leveles I, Harmat V, Vértessy BG and **Tóth J** (2010)
Aromatic stacking between nucleobase and enzyme promotes phosphate ester hydrolysis in dUTPase.
Nucleic Acids Res **38**, 7179-86.
If.: 7.836
10. Vértessy BG and **Tóth J** (2009)
Keeping uracil out of DNA: physiological role, structure and catalytic mechanism of dUTPases.
Accounts Chem Res **42**, 97-106.
If.: 18.203

4.2 Nemzetközi referált folyóiratban bírálat alatt álló publikációk

1. Lopata A, Levels I, Bendes AA, Viskolcz B, Vértessy BG, Jojart B and **Tóth J**
Passage through a strip door: nucleotide binding to a hidden active site requires small conformational changes. *Nucleic Acids Res*

- Róna G, Környei Z, Marfori M, Borsos M, Neubrandt M, Scheer I, Takács I, **Tóth J**, Babos B, Magyar A, Erdei A, Madarász M, Bozóky Z, Ellis JJ, Mehdi AM, Bodén M, Buday L, Kobe B and Vértessy BG
Reconstitution of the nuclear proteome after cell division through NLS modulation.
Dev Cell

4.3 Benyújtás előtt álló publikációk

- Lopata A, Takacs E, Jojart B, Leveles I, Bezur L, Viskolcz B, Vertessy BG and **Tóth J**
Beyond chelation: EDTA is an unexpected competitive inhibitor of nucleotide hydrolysis.
- Szabo JE, Takacs E, Merenyi G, Vertessy BG and **Tóth J**
Trade-off between specificity and cooperativity in the dUTPase superfamily.
- Lopata A, Vertessy BG, **Toth J**, Rosta E
QM/MM calculation of hydrolysis parameters in *Mycobacterium tuberculosis* dUTPase mutants
- Takacs E, Lopata A, Jojart B, Viskolcz B, Vertessy BG, **Toth J**
The magnesium cofactor is a conformational rectifier in the nucleotide hydrolysis of dUTPase

4.4 Nemzetközi konferencia kiadványok

- Tóth J**, Pécsi I, Vértessy BG (2008): The role of the C-terminus in the catalytic mechanism of human dUTPase. *52nd Annual Meeting of the Biophysical Society, Long Beach, CA, USA*
- Tóth J**, Pécsi I, Adams S, Vértessy BG (2008): The role of P-loop in the mechanism of β - γ nucleotide hydrolysis catalyzed by dUTPase, *The International Conference on Arginine and Pyrimidines, London, UK*
- Varga B, **Tóth J**, Takács E, Horváti K, Bosze Sz, Hudecz F, Szabadka Z, Grolmusz V, Vértessy BG (2008): Identification of novel drug candidates against key metabolic enzymes of *Mycobacterium tuberculosis* by an integrated multidisciplinary approach, *The International Conference on Arginine and Pyrimidines, London, UK*
- Toth J** (2009): Origin of the catalytic power in dUTPase, an essential nucleotide hydrolase, *EMBO Fellows Meeting, Heidelberg, Germany*
- G. Rona, E. Takacs, Z. Bozoky, Z. Kornyei, M. Neubrandt, **J. Toth**, I. Scheer, E. Madarasz, B.G. Vertessy (2010): Phosphorylation dependent nuclear transport of human dUTPase, *54th Annual Meeting of the Biophysical Society, San Francisco, CA, USA*
- E. Kovacs, V. Harmat, **J. Toth**, B.G. Vertessy, K. Modos, J. Kardos, K. Liliom (2010): New aspects of lipid-protein interactions revealed by calmodulin binding to the lipid mediator sphingosylphosphorylcholine, *54th Annual Meeting of the Biophysical Society, San Francisco, CA, USA*
- Pecsi, J.E. Szabo, B.G. Vertessy, **J. Toth** (2010): The role of p-loop in the enzymatic mechanism of nucleotide pyrophosphatases, *54th Annual Meeting of the Biophysical Society, San Francisco, CA, USA*
- E. Takacs, B.G. Vertessy, **J. Toth** (2010): Peculiar regulatory role of magnesium in nucleotide hydrolysis of dUTPases, *54th Annual Meeting of the Biophysical Society, San Francisco, CA, USA*
- Pecsi I, Parish T, Brown AC, Vertessy BG, **Toth J** (2010): Essentiality of dUTPase, a key enzyme in the thymidylate synthesis pathway in mycobacteria, *The EMBO Meeting 2010, Barcelona, Spain, 2010*

10. Pecsí I, Hirmondo R, Parish T, Brown AC, Lopata A, Vertessy BG, **Toth J** (2011): Essentiality of dUTPase in *Mycobacterium smegmatis* mediated by its structural motif identifies a novel TB drug target. *Keystone Symposia, Vancouver, Canada 2011*
11. Hirmondo R, Pecsí I, Lopata A, Brown AC, Parish T, Vertessy BG and **Tóth J**: *In vivo* enzymology of dUTPase: enzyme kinetics combined with phenotype analysis of mutants in *Mycobacterium smegmatis*. *The EMBO Meeting 2011, Vienna, Austria*
12. Róna G, Környei Z, Marfori M, Borsos M, Neubrandt M, Scheer I, Takács I, **Tóth J**, Babos B, Magyar A, Erdei A, Madarász M, Bozóky Z, Ellis JJ, Mehdi AM, Bodén M, Buday L, Kobe B and Vértessy BG: Oligomerization and cell-cycle dependent phosphorylation governs nuclear transport of dUTPases. *FEBS 3+ Meeting 2012, Opatija, Croatia*
13. Hirmondo R, Pecsí I, Lopata A, Brown AC, Parish T, Vertessy BG and **Tóth J**: The mycobacterial dUTPase: biochemistry, physiology and molecular intervention. *FEBS 3+ Meeting 2012, Opatija, Croatia*
14. Lopata A, Leveles I, Vértessy BG, **Tóth J**, Rosta E: Role of the c-terminal arm in the dUTPase catalytic mechanism. *FEBS 3+ Meeting 2012, Opatija, Croatia*
15. Szabo JE, Takacs E, Merenyi G, Vertessy BG and **Tóth J**: Trade-off between cooperativity and specificity in the dUTPase superfamily. *FEBS 3+ Meeting 2012, Opatija, Croatia*
16. **Toth J** (előadás): The Mg ion regulates nucleotide hydrolysis in a novel way in dUTPase. *FEBS 3+ Meeting 2012, Opatija, Croatia*

4.5 Tudományos ismeretterjesztés

1. Gazdasági Rádió, 2010. 12.06
2. Duna TV, *Heuréka* 2011.04.19
3. Magyar Katolikus Rádió, *Távolkép* 2011. 03.26
4. felvi.hu, *We asked for it*, 2011.02.15