

XXXI. OTDK Biológia Szekció

**Antivirális szerek kölcsönhatásának vizsgálata
a humán ABCG2 multidrog-transzporterrel**

Készítette:

CSEKE ANNA

Biológus MSc, II. évfolyam

Eötvös Loránd Tudományegyetem

Témavezetők:

TELBISZ ÁGNES, Ph.D., tud. mtárs

prof. Dr. SARKADI BALÁZS, kutatócsoport-vezető

MTA Membránbiológiai Kutatócsoport

2011. 11. 08.

Tartalomjegyzék

Bevezetés.....	4
Célkitűzések	5
Anyagok és módszerek.....	7
Eredmények.....	9
Diskusszió.....	15

Rövidítésjegyzék

ABC: ATP-binding cassette

BCRP: breast cancer resistance protein

NBD: nucleotide binding domain

TMD: transmembrane domain

RAMEB: random methylated β -cyclodextrin

WT: wild type, vad típusú

BEVEZETÉS

Az ABC-transzporter szupercsalád tagjai a prokariótákban és az eukariótákban egyaránt megtalálhatók. Olyan transzmembrán fehérjék, amelyek ATP-hidrolízisből nyerik az energiát a működésükhöz. A transzporterek változatos anyagokat juttatnak át a membránokon, de vannak nem-transzporterek is, például kromatin-szervezők, DNS-javítók és teloméra-fenntartók (Lindon és munkatársai 2007).

Az ABC-transzporterek sokféle szubsztrátot juttatnak át a sejtmembránon, vagy az intracelluláris kompartmentek membránjain, úgy, mint anyagcseretermékeket, lipideket, szteroidokat, toxikus anyagokat. Az ABC-transzporterek hibája számos örökletes betegségben szerepet játszik, például a cisztás fibrózis kialakulásában. Az ABC-transzporterek egy csoportja kulcsfontosságú a multidrog-rezisztencia kialakulásában. Sokféle szövet epiteliális rétegében előfordulnak, úgy, mint a vékonybél, máj, vese, méhlepény, vagy a vér-agy gát. Kiterjedt lokalizációjuk révén képesek az általuk transzportált anyagok felszívódását, ürülését és szöveti megoszlását befolyásolni (Sarkadi és munkatársai 2006).

Az ABC-transzporterek több doménből épülnek fel: a két citoplazmatikus ABC- vagy nukleotidkötő doménből (NBD) és a transzmembrán doménéből (TMD). A NBD citoplazmatikusan helyezkedik el, globuláris szerkezetű. Itt történik az ATP-kötés és hidrolízis. A két NBD domén együttesen alakítja ki az ATP-kötő helyeket. Minden TMD tipikusan hat membránon átívelő hélixből áll. Ez a domén felelős a szubsztrátkötésért, az ATP-hidrolízis energizálja a szubsztrát transzportját. Az ABC-fehérjék működéséhez legalább két TMD és két NBD szükséges. Ezek elhelyezkedhetnek egy polipeptidláncon belül, az ilyen fehérjéket egész transzportereknek nevezzük. Ha egy fehérjében csak 1-1 NBD és TMD található, féltranszportereknek hívjuk őket. Ezeknek dimerizálódniuk kell, hogy működhessenek (Jones és George 2004).

Az ABC-fehérjéket a NBD szerkezete szerint hét alcsaládba soroljuk, A-tól G-ig terjedő betűkkel jelöljük őket. Az egyes fehérjéket még egy további számmal különböztetjük meg.

Három fontos multidrog-transzportert ismerünk az emlősökben: a P-glikoproteint (más néven ABCB1/MDR1), a "multidrog-rezisztenciához társult transzportereket" (ABCC1-10/ MRP) és az "emlőrák-rezisztencia fehérjét" (ABCG2/BCRP/ MXR). Ezek a transzporterek számos toxikus hidrofób anyagot illetve ezek konjugátumait képesek kijuttatni a sejtből, megvédve a sejteket ezek toxikus hatásától. Mindegyik multispecifikus transzporter, számos gyógyászatban alkalmazott kemoterápiás és egyéb drog is a szubsztrátjuk.

Az ABCG2 transzporter, vagy BCRP (mellrákrezisztencia-fehérje, breast cancer resistance protein) az ABCG alcsaládhoz tartozó féltranszporter. Az ABCG2 felelős többek között a tumorsejtekben és a vírussal fertőzött sejtekben előforduló széleskörű multidrog-rezisztenciáért. Szubsztrátjai közé tartozik sok tumorellenes szer, például a mitoxantrone, topotecan, flavopiridol, és a methotrexát. Ilyen kezelések hatására a tumorsejtekben jelentősen több multidrog-transzporter expresszálódhat. Bár fiziológias szubsztrátjai a mai napig nincsenek feltérképezve, az Abcg2-deficiens egerekkel kapott eredmények arra utalnak, hogy ez a transzporter fontos szerepet játszhat a különböző toxikus anyagok elleni védelemben, valamint a sejt porfirin-háztartásában (Jonker és munkatársai, 2002).

Az ABCG2 több helyen előfordul, például a máj canalicularis membránjában, a vékonybélben, a vastagbélben, a vesében, a tüdőben, az emlő hámsejtjeiben, a mellékvese és verejtékmirigy epitéliumában, a kapillárisok és vénák endotéliumában, a vér-agy gátban és a placentában (Sarkadi és munkatársai 2004). Ezen kívül több őssejt-típusban is megtalálható, például a hematopoetikus őssejtek „side population” nevű frakciójában.

CÉLKITŰZÉSEK

Dolgozatomban az antivirális terápiás szerek és az ABCG2 multidrog-transzporter kölcsönhatását vizsgálom. Az antivirális szerek a vírus sejten belüli replikációját különböző pontokon gátolják, ezért fontos a multidrog-transzporterekkel való kölcsönhatás vizsgálata, mert az megakadályozhatja a kezelőszer bejutását a sejtbe. Az antivirális szereket leginkább HIV-fertőzésben szenvedő és a csökkent immunműködésű betegek esetében alkalmazzák.

A gyógyszer-transzporter kölcsönhatást *in vitro* esszékkal vizsgáljuk, ahol nagy mennyiségű ABCG2-t tartalmazó membrán alkalmazásával a fehérje aktivitásának változását nézzük a tesztvegyület jelenlétében, valamint humán ABCG2-t expresszáló sejtvonalakon vizsgáljuk a tesztvegyület sejtfelszíni multidrog-transzporterekkel való kölcsönhatását.

Kutatásom célja, hogy megfelelő mérési paneleket állítsak össze, melyek segítségével ismert és újonnan fejlesztett antivirális szerek ABCG2-vel való kölcsönhatása tesztelhető.

Legelőször három olyan terápiás szert választottunk, melyekkel kapcsolatban már ismert az ABCG2-vel való kölcsönhatás. Ezeken állítjuk be saját tesztrendszerünket, és a többféle tesztrendszer alkalmazásával kiterjedtebben fogjuk tudni vizsgálni a drog-transzporter kölcsönhatás jellegzetességeit. A választott drogok, a nelfinavir, a zidovudine és

a purvalanol-A különböző kémiai sajátosságú illetve terápiás szempontból különböző támadáspontú csoportokat reprezentálnak.

A nelfinavir gátolja a humán immundeficiencia-vírus proteázt, gyakran használják kombinált terápiában más humán HIV-proteáz-gátló szerrel. A mitoxantrone és a pheophorbide-A BCRP-mediált transzportját hatékonyan gátolja mikromoláris koncentrációban (Giri és munkatársai 2009, Gupta és munkatársai 2004).

A zidovudine egy nukleozid-analóg, radioaktívan jelzett molekuláját az ABCG2 transzportálja mind sejtes, mind egereken végzett kísérletekben. A P-gp-nek is szubsztrátja. Magas koncentrációban citotoxikus, ABCG2-expresszáló sejtekben kimutatható a megnövekedett toxicitási határérték (Giri 2008, Giri 2009).

A purvalanol-A egy purinszármazék, CDK-inhibítor, antivirális és antitumor hatással rendelkezik. Kimutatták, hogy gátolja az ABCG2 működését például az ABCG2-mediált hematoporphyrin-transzportot, és az ABCG2-mediált fototoxicitást is növelte egy kísérleti rendszerben (An és munkatársai, 2009).

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Humán ABCG2-t tartalmazó membránpreparátum készítése ATP-áz esszéhez

A humán ABCG2 cDNS-ét rekombináns bakulovírus transzfer vektorba klónozzuk és az Sf9 rovarsejteket megfertőzzük velük. A fertőzött sejteket begyűjtjük, a sejtmembránvezikulákat izoláljuk egy korábbi eljárás szerint, amely mechanikus homogenizáláson és elkülönítő centrifugáláson alapszik (Özvegy-L. és munkatársai 2005 a,b) és koleszterin-ciklodextrin komplex segítségével feltöltjük koleszterinnel az eredetileg a fehérjefunkció szempontjából elégtelen koleszterint tartalmazó rovarsejt-membránt (Telbisz és munkatársai 2007). A membránfehérje-koncentrációt meghatározzuk Lowry-módszerrel. Ezután kis adagokban tároljuk -80 °C-on.

Sejtvonalak

Az Sf9 sejtvonal általánosan használt rovarsejtvonal.

Emlős sejtes esszékhez PLB-985 humán limfoid sejtvonalból korábban intézetünkben előállított humán ABCG2-vel transzdukált és ABCG2-re szelektált stabil limfoid sejtvonalakat használunk (Özvegy-Laczka 2005 b).

ATP-áz esszé

Az ABCG2-t tartalmazó Sf9 membránvezikulákon mérjük az ATP-áz aktivitást. A nem ABC-transzporterhez kapcsolható ATPáz-aktivitást gátoljuk különböző gátlószerekkel (EDTA, Na-azid, ouabain) és az ABC-transzporterek vanadát-szenzitív ATP-hidrolízis aktivitását mérjük 3 mM ATP jelenlétében. Mintánként 10 µg fehérjét tartalmazó vezikulát 30 percig inkubálunk ATP jelenlétében 37 °C-on, 30 perc után a reakciót leállítjuk detergens (SDS) hozzáadásával. A keletkező inorganikus foszfátot kolorimetriás esszével kvantitatívan kimutatjuk (Özvegy-Laczka és munkatársai 2001).

Mitoxantrone uptake assay

A mitoxantrone egy ABCG2 által transzportált fluoreszcens vegyület, amelynek sejtbefelvételét más ABCG2-vel kölcsönható anyagok befolyásolják. Méréseinkben humán ABCG2-t expresszáló és parentális PLB sejtvonalakat használtunk. Az élő sejteket 20 percig inkubáljuk 7 μ M mitoxantrone jelenlétében, gátlószer nélkül, illetve a vizsgált anyaggal, gátlószerrel. Kontrollként 1 μ M Ko143 ABCG2 specifikus inhibitorát használunk. Egy mosási lépés után a sejtek fluoreszcenciáját FACSCalibur áramlási citométerrel mérjük 635 nm-es excitációs és 661/16 nm-es emissziós hullámhosszon (Özvegy és munkatársai 2002).

5D3-shift mérés

Az 5D3 egy monoklonális, konformáció-szenzitív antitest, amely az ABCG2 fehérje egyik extracelluláris epitópjához kötődik. A szubsztrát és ATP jelenlétében a fehérje konformációja megváltozik, ennek következtében az antitest-kötődés mértéke megnő. Inhibitor drog jelenlétében a sejtek erősebben jelölődnek. Méréseinkben Alexa 647 fluoreszcens festékkel jelölt 5D3 antitestet használunk. Az intakt sejteket 45 percig 37 °C-on inkubáljuk a teszt drog, illetve a Ko143 inhibitor kontroll jelenlétében, 0,5% albuminnal kiegészített Hank's oldatban. Egy mosási lépés után a sejtek fluoreszcenciáját FACSCalibur áramlási citométerrel mérjük 635 nm-es excitációs és 661/16 nm-es emissziós hullámhosszon. (Telbisz és munkatársai 2011, Özvegy-Laczka és munkatársai 2005 b, 2008)

EREDMÉNYEK

Az antivirális szerek hatásának vizsgálata ATP-áz esszéiben

Az ABC-transzporterek drogtranszportja és ATP-áz aktivitása sztoichiometrikusan kapcsolt folyamat. Mivel egyenes arányosság áll fenn köztük, az ATP-áz aktivitás mértékéből következtethetünk a drog transzportra. Az ABCG2-nek jelentős drogfüggetlen alapaktivitása van, ami fokozható, vagy gátolható. A transzporter által kijuttatott szubsztrát fokozza, a lassan transzportálódó szubsztrát vagy alloszterikus gátlószer csökkenti az ATP hidrolízis mértékét.

A quercetin olyan szubsztrát, amely fokozza az ABCG2 alapaktivitását. Gátlószeres jellemzésekor a szubsztrát-stimulált aktivitás gátlását mérjük, melyhez kis koncentrációjú quercetint használunk. Ebben a mérési panelben jobban detektálhatók a kisebb hatású inhibitorok.

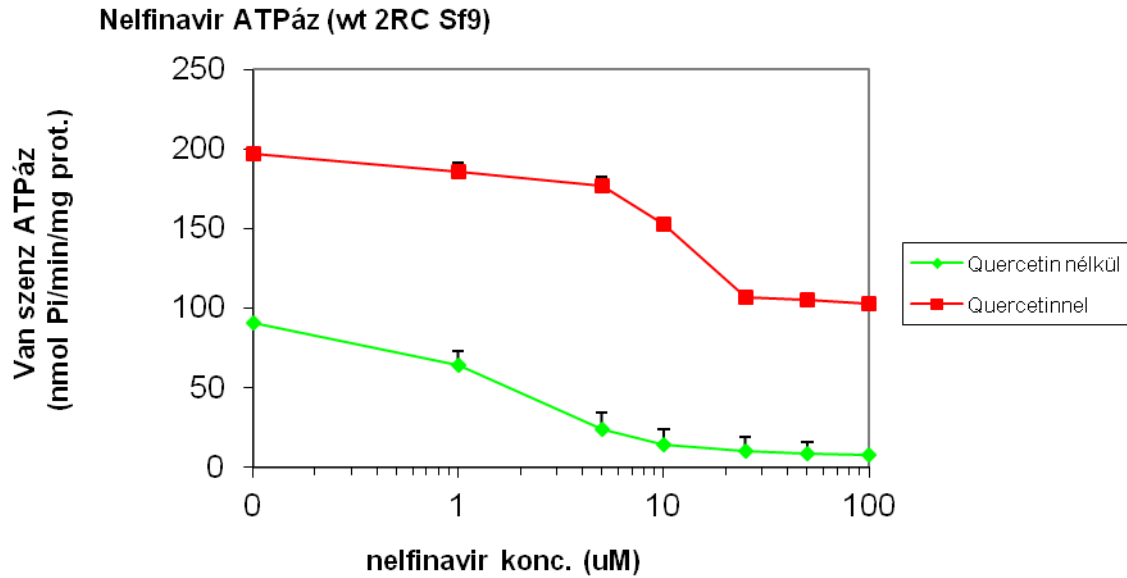
A rovarsejtekben az emlőssejtekhez képest magas expressziót lehet elérni, ezért az általánosan használt Sf9 (*Spodoptera frugiperda*) rovarsejt-kultúrában expresszáltatjuk az ABCG2 fehérjét. Ebből preparáljuk az ATP-áz esszéhez használt membránvezikulákat.

Az ABCG2 működése koleszterin-függő. Az Sf9 rovarsejtek koleszterintartalma minimális az emlőssejtekéhez képest, ezért koleszterinnel töltjük az Sf9 vezikulákat. A koleszterin nem oldódik vízben, ezért koleszterinnel töltött RAMEB-et (random metylated β -cyclodextrin) használtunk a membrán koleszterin-dúsításához.

A nelfinavir gátolta az ABCG2 ATP-áz aktivitását. 25 μ M nelfinavir koncentrációnál már majdnem maximális a gátlás, quercetin jelenlétében és quercetin nélkül is (1. ábra).

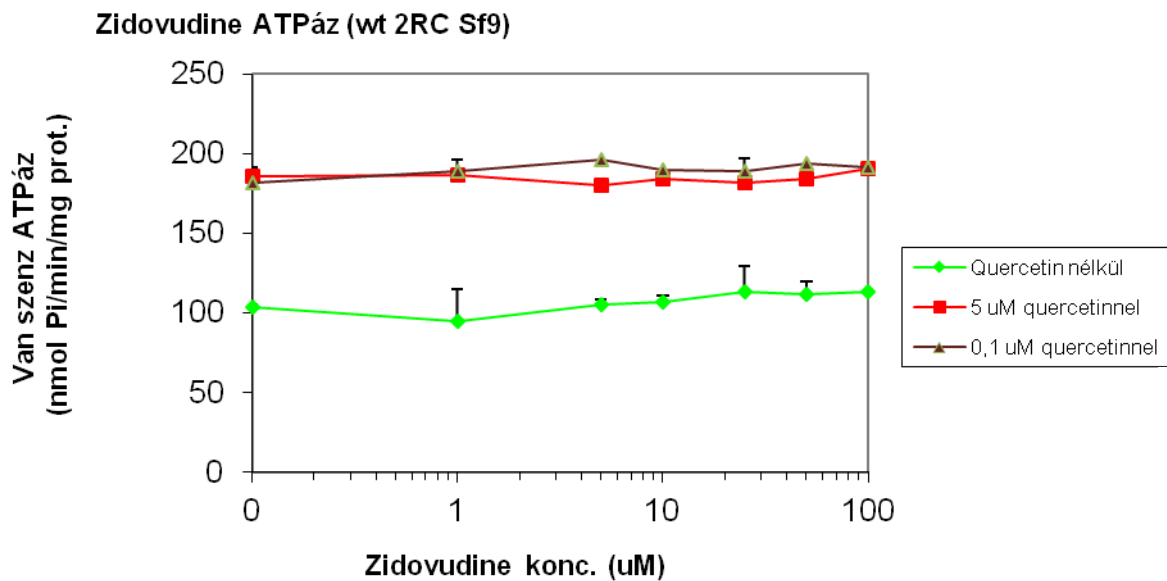
A zidovudine nem volt szignifikáns hatással az ABCG2 ATP-áz aktivitására a vizsgált körülmények között (2. ábra).

A purvalanol-A gátolta az ABCG2 ATP-áz aktivitását. 25 μ M purvalanol-A végkoncentrációnál már majdnem maximális a gátlás, quercetin jelenlétében. (3. ábra).



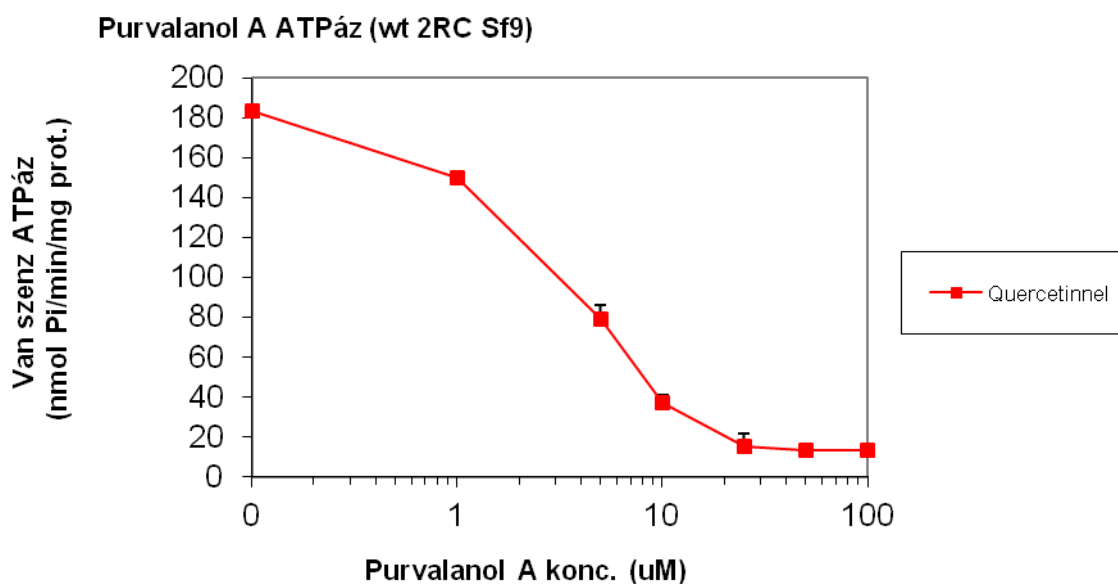
1. ábra. A nelfinavir hatása a vanadát-szenzitív ATP-áz aktivitásra Sf9 sejtekben.

Nelfinavir koncentrációk: 1, 5, 10, 25, 50, 100 μM . Zöld $\bullet$ - quercetin hozzáadása nélkül, piros $\blacksquare$ - 1 μM quercetin mellett mért aktivitásváltozás.



2. ábra. A zidovudine hatása a vanadát-szenzitív ATP-áz aktivitásra Sf9 sejtekben.

Zidovudine koncentrációk: 1, 5, 10, 25, 50, 100 μM . Zöld $\bullet$ - quercetin hozzáadása nélkül, piros $\blacksquare$ - 5 μM quercetin, bordó $\blacktriangle$ - 1 μM quercetin mellett mért aktivitásváltozás.



3. ábra. A purvalanol-A hatása a vanadát-szenzitív ATP-áz aktivitásra Sf9 sejtekben.

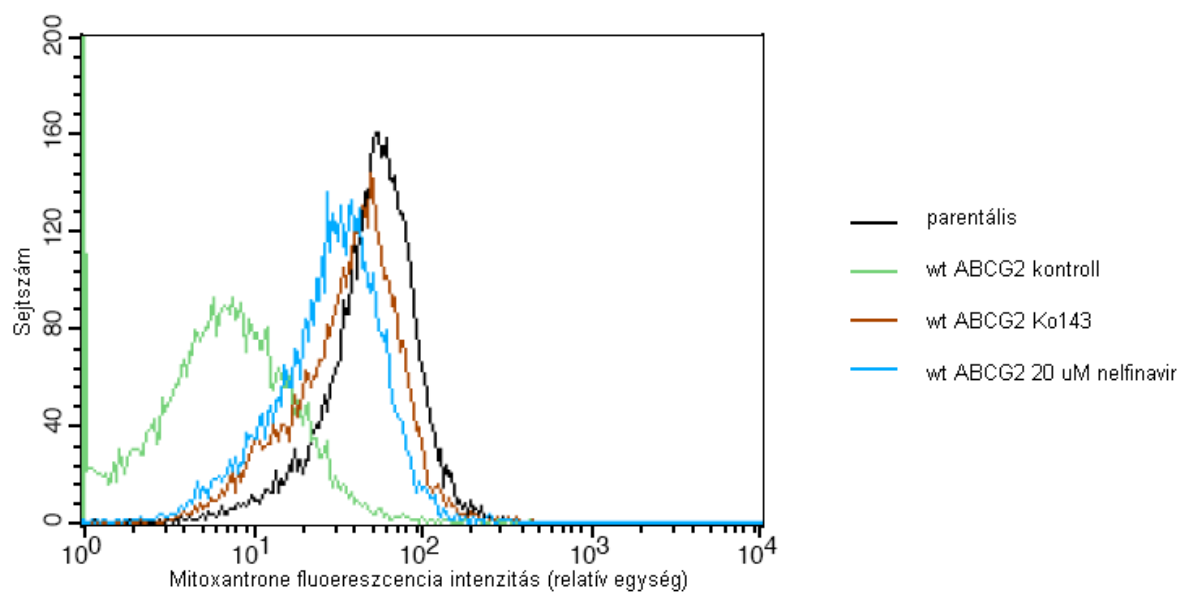
Purvalanol-A koncentrációk: 1, 5, 10, 25, 50, 100 µM. Az ábra 1 µM quercetin mellett mutatja az aktivitásváltozást.

Az antivirális szerek hatásának vizsgálata mitoxantrone uptake esszéiben

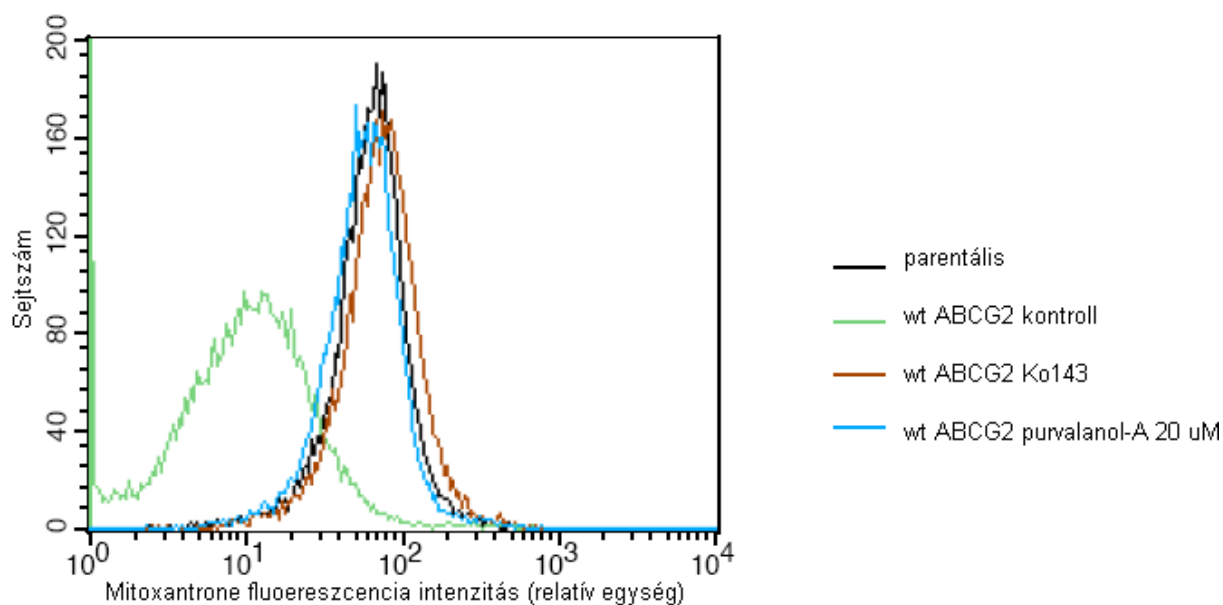
Az ABCG2 funkciójának vizsgálatára alkalmasak a festéktranszport-esszék. A mitoxantrone több ABC-transzporter által transzportált fluoreszcens molekula. ABCG2-tartalmú sejtekben csökkent mitoxantrone-felhalmozódás mérhető, amely ABCG2-specifikus inhibitorokkal a parentális sejtekre jellemző értékhez közelíthető.

A vizsgálathoz parentális és ABCG2-t expresszáló PLB sejteket használtunk. A sejtek mitoxantrone felvételét FACS-on analizáltuk.

A parentális PLB sejtekhez képest jelentősen csökkent mitoxantrone-felhalmozódást mutatnak a wt ABCG2 sejtek, amelyet Ko143 gátlószerrel, mely az ABCG2 specifikus és legerősebb inhibitora, fokozni tudunk. Az ATP-áz mérések alapján kiválasztott koncentrációjú, 20 µM nelfinavir (4. ábra) és purvalanol (5. ábra) hatására a PLB sejtek mitoxantrone-felvétele megnő, a parentális és a wt ABCG2, Ko143-mal kezelt sejtekéhez közelít. Tehát ebben az esszében a nelfinavir és a purvalanol gátlószerként viselkedik.



4. ábra. A nelfinavir hatása a mitoxantrone-felvételre parentális és wt ABCG2-t expresszáló PLB sejtekben. Az ábrán az egyes kezelésekhez tartozó FACS hisztogram görbéket mutatjuk. A Ko143 koncentrációja 1 μ M, a nelfinaviré 20 μ M volt.

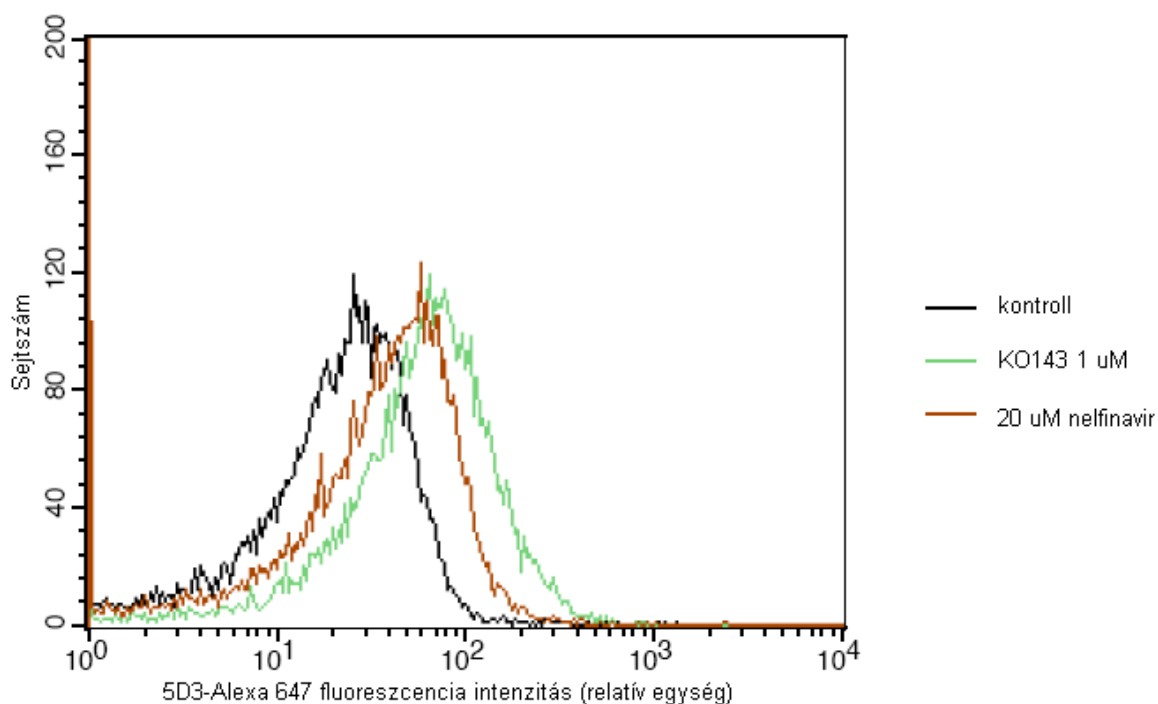


5. ábra. A purvalanol-A hatása a mitoxantrone-felvételre parentális és wt ABCG2-t expresszáló PLB sejtekben. Az ábrán az egyes kezelésekhez tartozó FACS hisztogram görbéket mutatjuk. A Ko143 1 μ M, a purvalanol A koncentrációja 20 μ M volt.

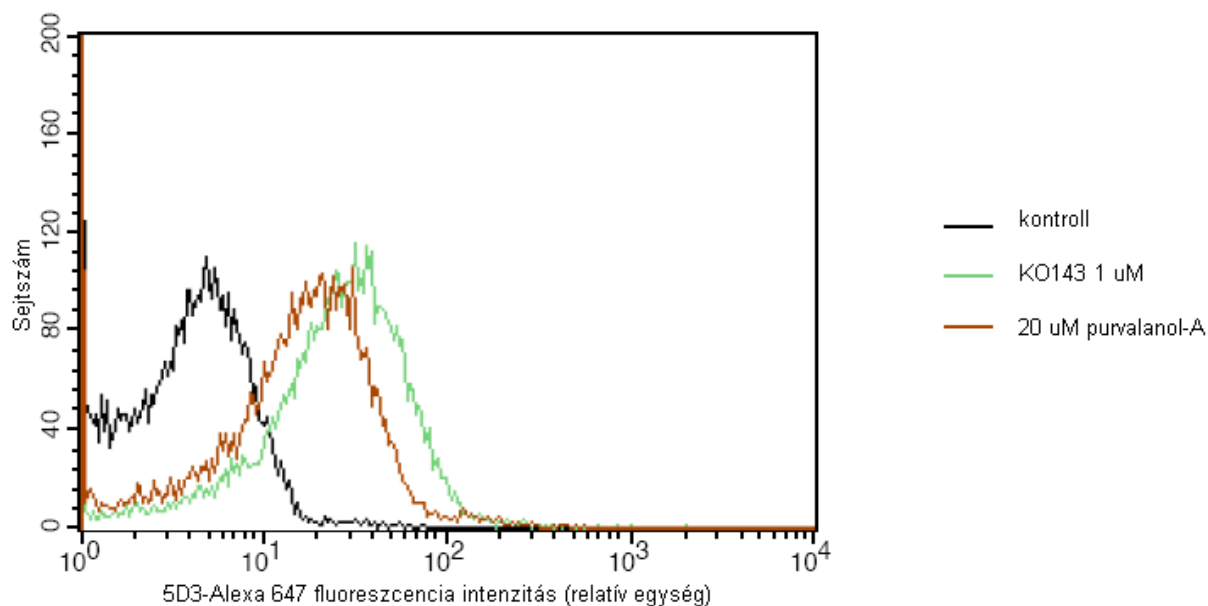
Az 5D3 egy monoklonális, konformáció-szenzitív antitest, amely az ABCG2 fehérjén valamilyen extracelluláris epitóphoz kötődik. A szubsztrát és ATP jelenlétében a fehérje konformációja megváltozik, ennek következtében az antitest-kötődés mértéke megnő. Inhibitor drog jelenlétében a sejtek erősebben jelölődnek 5D3 antitesttel, ami a FACS hisztogram görbék eltolódásában (5D3 shift) jelentkezik. A hisztogram görbéket a relatív mértani középértékekkel jellemeztük, ennek változásából számítjuk a relatív 5D3 shift értéket. 100%-nak tekintjük az 1 μ M Ko143 jelenlétében mért maximális értéket.

A vizsgálathoz csak wt ABCG2-t expresszáló PLB sejteket használtunk.

A nelfinavir (6. és 8. ábra) és a purvalanol-A (7. és 9. ábra) koncentráció-függő módon növelték az 5D3-kötődés mértékét. Inhibitor hatásuk mindkét esetben a legmagasabb alkalmazott koncentrációkban összevethető a Ko143 gátlószerével, hatékony koncentrációjuk ugyanakkor sokkal magasabb.

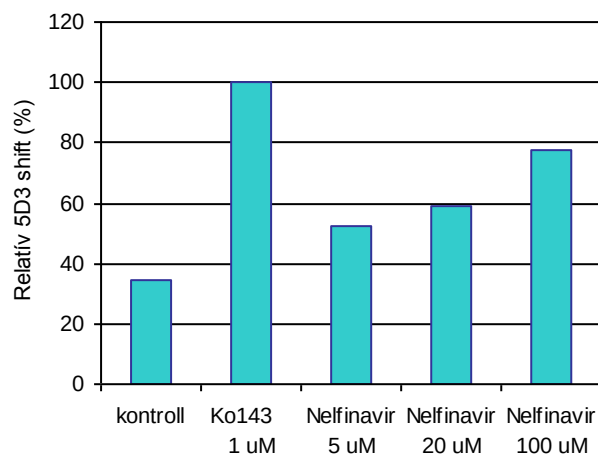


6. ábra. A nelfinavir hatása az 5D3-kötődés mértékére wt ABCG2-t expresszáló PLB sejtekben. Az egyes hisztogramok a jelmagyarázatban megadott kezelések eredményét mutatják: *Kontroll* – kezeletlen, *Ko143* – 1 μ M Ko143-mal kezelt, *20 uM nelfinavir* – 20 μ M nelfinavirral kezelt sejtminták.



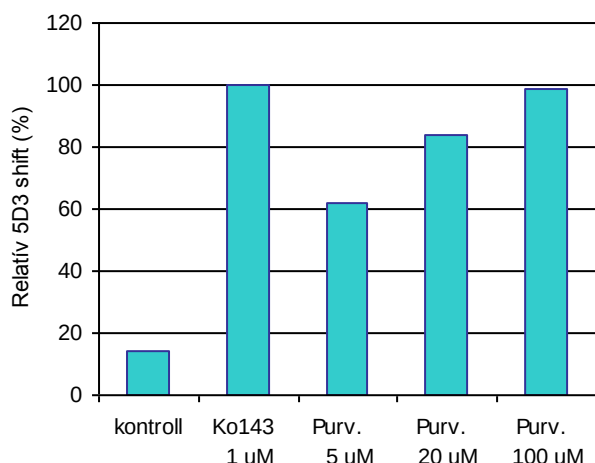
7. ábra. A purvalanol-A hatása az 5D3-kötődés mértékére wt ABCG2-t expresszáló PLB sejtekben

Az egyes hisztogramok a jelmagyarázatban megadott kezelések eredményét mutatják: *Kontroll* – kezeletlen, *Ko143* – 1 μM Ko143-mal kezelt, *20 μM purvalanol-A* – 20 μM purvalanol A-val kezelt sejtminták.



8. ábra A nelfinavir hatása az 5D3-kötődés mértékére wt ABCG2-t expresszáló PLB sejtekben. Az ábra a FACS hisztogram-görbék mértani középértéke alapján számított relatív hatásokat mutatja, Ko143-hoz viszonyítva.

A mérésben 5 μM, 20 μM és 100 μM nelfinavirral kezelt sejtekben mért hatásokat hasonlítottuk össze a kontrollokkal.



9. ábra. A purvalanol-A hatása az 5D3-kötődés mértékére wt ABCG2-t expresszáló PLB sejtekben. Az ábra a FACS hisztogram-görbék mértani középértéke alapján számított relatív hatásokat mutatja, Ko143-hoz viszonyítva.

A mérésben 5 uM, 20 uM és 100 uM nelfinavirral kezelt sejtekben mért hatásokat hasonlítottuk össze a kontrollokkal.

DISZKUSSZIÓ

Az ABCG2 szervezetünk fontos multidrog-transzportere, ezáltal az antivirális terápiás szerek hatékonyságát is bizonyítottan befolyásolja, amit a mi in vitro eredményeink is valószínűsítene. Az ABCG2 képes ezeknek a szereknek sejten belüli koncentrációját a hatásos szint alá csökkenteni. Mivel a drog-membrántranszporter kölcsönhatás összetett és sok tényező befolyásolja, többféle funkcióra specializált esszé jobban körvonalazza a drog-transzporter interakciót. Mostanáig elvégzett vizsgálatainkban három antivirális szer kölcsönhatását vizsgáltuk azzal a céllal, hogy az általunk használt esszérendszereket beállítsuk ismeretlen antivirális szerek tesztelése céljából.

Eddigi eredményeink a nelfinavir és a purvalanol-A esetében egybehangzóak az irodalmi adatokkal. A nelfinavir és a purvalanol minden általunk alkalmazott esszében kölcsönhatást mutatott az ABCG2 fehérjével, mikromoláris koncentráció-tartományban gátolta a fehérje ATP-áz aktivitását, transzportfunkcióját és az 5D3 shift esszében inhibitor jellegű hatást mutatott. Az irodalomban eddig ismertetett mérésekben szintén mikromoláris koncentrációban tapasztaltak transzportgátlást (Giri és munkatársai 2009, Gupta és

munkatársai 2004, An és munkatársai 2009). Ezek a transzportmérések nem képesek egymástól elkülöníteni a kompetitív és az allosztérikus inhibitorokat. Az általunk végzett jobban diszkrimináló ATP-áz esszé és 5D3 shift esszé alapján valószínűsíthető, hogy ezek a hatóanyagok a nem transzportálódó inhibitorok csoportjába tartoznak.

A továbbiakban tervezzük a mérések ismétlését és a mitoxantrone uptake esszében a hatóanyagok vizsgálatát kisebb koncentrációkban is, hogy az *in vivo* körülményeket, melyekre kisebb koncentrációk jellemzők, jobban modellezhessük.

A zidovudine-ABCG2 kölcsönhatást eddigi mérések radioaktívan jelzett zidovudine ABCG2-mediált transzportjaként mutatták ki (Giri és munkatársai 2008 és 2009). Mi eddig ATP-áz esszében vizsgáltuk a hatását, de a zidovudine nem befolyásolta az ABCG2 ATP-áz aktivitását. Ismert, hogy egyes transzportált szubsztrátok nem befolyásolják szignifikánsan az ATP-áz aktivitást, ezekben az esetekben a drog-indukált ATP-hidrolízist elfedheti a magas alapaktivitás. Ez jellemző például a bizonyítottan transzportálódó kemoterápiás szerre, a methotrexate-ra is. Ezek rendszerint kis affinitású szubsztrátvegyületek. A továbbiakban tervezzük a zidovudine nagyobb koncentrációkban, valamint más esszékben való vizsgálatát.

A következő mérésorozatban olyan kísérleti, preklinikai stádiumban levő antivirális szerek hatását fogjuk jellemezni idáig beállított esszérendszereinkben, amelyek a CDK-inhibitorok csoportjába tartoznak.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretnék köszönetet mondani témavezetőimnek, Dr. Telbisz Ágnesnek és prof. Dr. Sarkadi Balázsnak szakdolgozatom elkészítésében nyújtott segítségükért és útmutató tanácsaikért, továbbá az MTA Membránbiológiai Kutatócsoport tagjainak.

IRODALOMJEGYZÉK

- An, R., Y. Hagiya, A. Tamura, S. Li, H. Saito, D. Tokushima, és T. Ishikawa. „Cellular phototoxicity evoked through the inhibition of human ABC transporter ABCG2 by cyclin-dependent kinase inhibitors in vitro”. *Pharmaceutical research* 26, sz. 2 (2009): 449–458.
- Giri, Nagdeep, Sagar Agarwal, Naveed Shaik, Guoyu Pan, Ying Chen, és William F Elmquist. „Substrate-dependent breast cancer resistance protein (Bcrp1/Abcg2)-mediated interactions: consideration of multiple binding sites in in vitro assay design”. *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals* 37, sz. 3 (március 2009): 560-570.
- Giri, Nagdeep, Naveed Shaik, Guoyu Pan, Tetsuya Terasaki, Chisato Mukai, Shinji Kitagaki, Naoki Miyakoshi, és William F. Elmquist. „Investigation of the Role of Breast Cancer Resistance Protein (Bcrp/Abcg2) on Pharmacokinetics and Central Nervous System Penetration of Abacavir and Zidovudine in the Mouse”. *Drug Metabolism and Disposition* 36, sz. 8 (2008): 1476 -1484.
- Gupta, Anshul, Yi Zhang, Jashvant D. Unadkat, és Qingcheng Mao. „HIV Protease Inhibitors Are Inhibitors but Not Substrates of the Human Breast Cancer Resistance Protein (BCRP/ABCG2)”. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 310, sz. 1 (1, 2004): 334 -341.
- Jonker, Johan W, Marije Buitelaar, Els Wagenaar, Martin A Van Der Valk, George L Scheffer, Rik J Scheper, Torsten Plosch, et al. „The breast cancer resistance protein protects against a major chlorophyll-derived dietary phototoxin and protoporphyria”. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99, sz. 24 (november 26, 2002): 15649-15654.
- Jones, PM and A. M. George. „The ABC transporter structure and mechanism: perspectives on recent research. Review. *Cell Mol. Life Science* 61 (2004) 682–699
- Linton, Kenneth J. „Structure and Function of ABC Transporters”. *Physiology* 22, sz. 2 (prilis 2007): 122 -130.
- Özvegy, Csilla, Thomas Litman, Gergely Szakács, Zoltán Nagy, Susan Bates, András Váradi, és Balázs Sarkadi. „Functional Characterization of the Human Multidrug Transporter, ABCG2, Expressed in Insect Cells”. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 285, sz. 1 (6, 2001): 111-117.
- Özvegy, Csilla, András Váradi, and Balázs Sarkadi. „Characterization of Drug Transport, ATP Hydrolysis, and Nucleotide Trapping by the Human ABCG2 Multidrug Transporter” *The Journal of Biological Chemistry* 277, 50, 2002
- Özvegy-Laczka, Csilla, Gabriella Köblös, Balázs Sarkadi, és András Váradi. „Single amino acid (482) variants of the ABCG2 multidrug transporter: major differences in transport capacity and substrate recognition”. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* 1668, sz. 1 (február 1, 2005): 53-63.
- Özvegy-Laczka, Csilla, Rozália Laczkó, Csilla Hegedűs, Thomas Litman, György Várady, Katalin Goda, Tamás Hegedűs, et al. „Interaction with the 5D3 Monoclonal Antibody Is Regulated by Intramolecular Rearrangements but Not by Covalent Dimer Formation of the Human ABCG2 Multidrug Transporter”. *Journal of Biological Chemistry* 283, sz. 38 (2008): 26059 -26070.
- Özvegy-Laczka, Csilla, György Várady, Gabriella Köblös, Olga Ujhelly, Judit Cervenak, John D. Schuetz, Brian P. Sorrentino, et al. „Function-dependent Conformational Changes of the ABCG2 Multidrug Transporter Modify Its Interaction with a

- Monoclonal Antibody on the Cell Surface". *Journal of Biological Chemistry* 280, sz. 6 (február 11, 2005): 4219 -4227.
- Robey, R W, Y Honjo, A van de Laar, K Miyake, J T Regis, T Litman, és S E Bates. „A functional assay for detection of the mitoxantrone resistance protein, MXR (ABCG2)". *Biochimica Et Biophysica Acta* 1512, sz. 2 (június 6, 2001): 171-182.
- Sarkadi, Balázs, Csilla Özvegy-Laczka, Katalin Németh, és András Váradi. „ABCG2 - a transporter for all seasons". *FEBS Letters* 567, sz. 1 (1, 2004): 116-120.
- Sarkadi, B., Homolya, L., Szakacs, G., Varadi, A., 2006. Human multidrug resistance ABCB and ABCG transporters: participation in a chemoinnity defense system. *Physiol Rev* 86, 1179-1236
- Telbisz, Ágnes, Marianna Müller, Csilla Özvegy-Laczka, László Homolya, Lajos Szenté, András Váradi, és Balázs Sarkadi. „Membrane cholesterol selectively modulates the activity of the human ABCG2 multidrug transporter". *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* 1768, sz. 11 (november 2007): 2698-2713.
- Telbisz Ágnes Csilla Hegedüs; Csilla Özvegy-Laczka, Ph.D.; Katalin Goda, Ph.D.; György Varady, Ph.D.; Zoltan Takats, Ph.D.; Eszter Szabo; Brian P Sorrentino, MD, Ph.D.; Andras Varadi, Ph.D.; Balazs Sarkadi, MD, „Antibody binding shift assay for rapid screening of drug interactions with the human ABCG2 multidrug transporter" Ph.D. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* (elfogadás: 2011., publikálás alatt)

Nyilatkozat a pályázó egyéni hozzájárulásáról a pályaműben leírt eredményekhez

Kijelentem, hogy a pályaműben leírt eredményeket saját munkával értem el,
a témavezetőim útmutatása alapján.