

Az eredmények felsorolása:

A projekt során:

1. felszereltük a saját sejttenyésztő laborunkat amihez beszereztük a szükséges műszereket
2. beszereztük az autofágia humán sejttenyészetben történő vizsgálatához szükséges riporter konstrukciókat és ellenanyagokat
3. stabil Rab2 géncsendesített sejt vonalakat hoztunk létre Haracska Lajos kutatócsoportjával együttműködésben
4. sikeresen kimutattuk a várt autofág lebontási hibát ezekben a géncsendesített sejtekben mikroszkópos és western blot módszerekkel
5. rekombináns *Drosophila* Syntaxin 17 SNARE fehérjét tisztítottunk baktériumokból szolubilis formában, biokémiai analízis céljából
6. poliklonális ellenanyagot hoztunk létre az általunk tisztított rekombináns *Drosophila* Ykt6 SNARE proteinre, amit western blot-ra használtunk
7. transzgénikus *Drosophila* vonalakat hoztunk létre, melyek vad típusú és lipidációs mutáns Ykt6 formákat fejeznek ki, melyeket genetikai menekítésekre és mikroszkópos lokalizációra használtuk
8. biokémiai módszerrel igazoltuk és térképeztük a Syntaxin 17, Ykt6, and Vamp7 SNARE fehérjék és a HOPS pányvázó komplex alegységei (Vps33 és Vps18) közötti kölcsönhatásokat
9. a *Drosophila* Ykt6 szerepét és a SNARE-HOPS kölcsönhatásokat bemutató cikkünket a PLOS Genetics-ben közzeltük (Scimago ranking: D1), ezúttal másik 3 velünk versengő kutatócsoportot megelőzve (laborvezetők: Noboru Mizushima, Claudine Kraft, Christian Ungermann)
10. az autofágia vizsgálatát *Drosophila*-ban leíró összefoglaló cikket közzeltünk a Cells folyóiratban (Scimago ranking: Q1)
11. társszerzőként jegyeztünk egy másik összefoglalót, ami a D1-es EMBO Journal-ben jelent meg
12. GFP-DFCP1-et kifejező transzgénikus *Drosophila*-k létrehozásával részt vettünk egy autofágiában szereplő új faktor, a Zonda jellemzésében, ami a Q1-es Mol Biol Cell-ben jelent meg
13. Felfedeztük az Ykt6 szerepét a krinofágiában (szekréciós granulum-lizoszóma fúzió)
14. Egyedi rekombináns fehérjéket tisztítottunk és összeállítottuk a makroautofág és krinofág SNARE komplexeket: Syx17-SNAP29-Vamp7, Syx13-SNAP29-Vamp7, és a meglehetősen stabil Syx13-SNAP29-Ykt6
15. Mivel a humán Ykt6 jellemzése nem sokkal a *Drosophila* cikkünk után publikálásra került, így nem volt értelme a humán fehérjét vizsgálnunk
16. Beadtuk az ERC Advanced Grant pályázatunkat

Description of the results :

During this project, we have successfully:

1. set up our own human cell culture lab including the purchase of all necessary equipment
2. obtained reporter constructs and antibodies to study autophagy in human cells
3. generated and validated stable Rab2 knockdown HeLa cells in collaboration with the group of Lajos Haracska
4. detected the expected autophagic degradation defect using microscopy and western blots in these knockdown cells
5. purified recombinant Drosophila Syntaxin 17 SNARE from bacteria in soluble form for biochemical analysis
6. raised antibodies against newly purified, recombinant Drosophila Ykt6 SNARE protein and used these for western blots
7. generated transgenic Drosophila lines expressing wild-type and mutant forms of Ykt6 and used these for genetic rescue and localization experiments
8. mapped the multiple binding sites between Syntaxin 17, Ykt6, and Vamp7 SNAREs and HOPS subunits (Vps33 and Vps18) in biochemical experiments
9. published our data on Drosophila Ykt6 and SNARE-HOPS interactions in the D1 (Scimago ranking) journal PLOS Genetics, this time ahead of 3 different competing groups who are currently trying to publish their 3 separate works on the role of Ykt6 in autophagy (the separate competing groups are led by Drs. Noboru Mizushima, Claudine Kraft, Christian Ungermann, respectively).
10. published a review article on how to study autophagy in Drosophila in the Q1 (Scimago ranking) journal Cells
11. co-authored another review article on autophagy that was published in the D1 journal: EMBO J
12. contributed to the characterization of a new factor involved in autophagy (Zonda) by generating GFP-DFCP1 transgenic flies in a collaborative work that was published in the Q1 journal Mol Biol Cell
13. We have discovered a role for Ykt6 in crinophagy (secretory granule-lysosome fusion)
14. We purified individual recombinant proteins and assembled macroautophagic and crinophagic SNARE complexes: Syx17-SNAP29-Vamp7, Syx13-SNAP29-Vamp7, and the also quite stable Syx13-SNAP29-Ykt6
15. Since human Ykt6 has been characterized and published shortly after our Drosophila paper by the Mizushima group, it did not make sense to study human Ykt6
16. We have submitted an ERC Advanced Grant proposal