

**A plazmamembrán típusú kalcium ATPáz PMCA4b szerepe a sejten belüli Ca²⁺
homeosztázis valamint a mozgás és az áttétkezés szabályozásában BRAF
mutáns sejtvonalakban**

Doktori értekezés tézisei

Luca Hegedűs

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Természettudományi Kar

Biológia Doktori Iskola

Molekuláris sejt- és neurobiológia program

Témavezető:

Dr. Enyedi Ágnes PhD, DSc

Programvezető:

Dr. Juhász Gábor PhD, DSc

Iskolavezető:

Prof. Erdei Anna PhD, MTA member

Budapest, 2017

Bevezetés

A kalcium egy fontos másodlagos hírvivő molekula, ami létfontosságú folyamatok szabályozásában vesz részt a sejtosztódástól a sejt haláláig. Tumorsejtekben a Ca^{2+} szabályozó fehérjék szintje és aktivitása gyakran módosult. A plazmamembrán típusú kalcium ATPázok (PMCA) hozzájárulnak az alacsony nyugalmi sejten belüli Ca^{2+} koncentráció fenntartásához a felesleges kalcium citoszólból történő eltávolításával. Négy PMCA fehérje ismert (PMCA1-4), amiket négy különböző gén kódol (ATP2B1-4). Ezekből több mint 20 izoforma képződhet alternatív szplájszing révén. Az egyes PMCA izoformák különböznek kinetikai tulajdonságaikban és szabályozásukban, ami meghatározza a beérkező Ca^{2+} jelekre való reakciójukat.

A PMCA fehérjék szintjének és aktivitásának megváltozását már többféle daganat típusban leírták. A PMCA4b kifejeződésében jelentős csökkenést találtak vastagbél daganatok nyirokcsomó áttéteiben a normál szövethez és az adenómákhoz képest. Hasonlóan, a normál emlő epithéliumban a PMCA4b bőségesen jelen van, míg mellrák sejtekben csak nagyon kis mennyiségben. Ezentúl, hiszton deacetiláz inhibitor (HDACi) kezelés hatására a PMCA4b szintje megemelkedett gyomor- és vastagbélrák sejtvonalakban és MCF-7 emlő tumor sejtekben is. Poszt-konfluens Caco-2 vastagbélrák sejt kultúrákban spontán differenciáció hatására a PMCA4b expresszió növekedett. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a PMCA4b fehérje szintje összefüggésben áll a sejtek differenciációs fokával.

A rosszindulatú melanóma egy áttétképzésre rendkívül hajlamos daganat típus, amely rossz prognózissal társul. A melanómákban a BRAF a leggyakrabban előforduló onkogén, az estek 50%-ban van jelen és a RAS-RAF-MEK-ERK jelátviteli útvonal folytonos aktivációját okozza. A BRAF és a MEK kinázokkal szemben számos specifikus gátlószer létezik. Ezek gyors és hatékony választ váltanak ki, azonban a betegek többségében vagy elsődleges, vagy gyakrabban, rövid időn belül, szerzett rezisztencia alakul ki. Újabban, ígéretes eredményeket értek el az immune checkpoint gátlószerekkel - CTLA-4 és PD-1 inhibitorok – de még mindig van a betegeknek egy nagy csoportja, amelyik egyik ismert terápiára sem reagál, vagy hamar rezisztenssé válik. Bár számos Ca^{2+} szabályozó fehérje szintjének megváltozását leírták melanóma sejtekben, a plazmamembrán típusú Ca^{2+} ATPázok szerepét a melanóma invázióban még nem vizsgálták.

Célkitűzések

Munkánk során tanulmányoztuk, hogy a különböző PMCA izoformák hogyan befolyásolják a citoszólikus Ca^{2+} jel mintázatát valamint, hogy milyen szerepet játszanak a PMCA fehérjék a melanóma sejtek mozgásában és áttétképzésében. Annak érdekében, hogy ezt vizsgálni tudjuk:

1. Meghatároztuk a PMCA4b, PMCA4a és PMCA2b izoformák hatását a raktár függő kalcium belépést követő Ca^{2+} jel mintázatára. Ennek érdekében, mCherry-vel jelölt PMCA variánsokat és egy genetikailag kódolt Ca^{2+} jelölő fehérjét (GCaMP2) fejeztünk ki egyidejűleg HeLa sejtekben.
2. Tanulmányoztuk a PMCA fehérjék hatását a Ca^{2+} jelátvitelre BRAF mutáns és BRAF vad típusú melanóma sejtekben. Meghatároztuk, hogy mely PMCA fehérjék fejeződnek ki ezekben a sejtekben, és megvizsgáltuk a mutáns BRAF gátlószer kezelés hatását a PMCA kifejeződésére, sejten belüli elhelyezkedésére és a sejten belüli Ca^{2+} szignál időbeli lefutására.
3. Mivel gyakran a metasztatikus melanóma eredetű sejtek nagyon mozgékonyak, megmértük, hogy a mutáns BRAF gátlás hatására, hogyan változik a sejtek migrációs képessége.
4. Megvizsgáltuk, hogy a PMCA fehérjék – különös tekintettel a PMCA4b-re – hogyan befolyásolják a melanóma sejtek mozgását. Ezért PMCA4b-t kifejező BRAF mutáns sejtvonalakat hoztunk létre és elemeztük ezek migrációs tulajdonságait *in vitro*, és áttétképző képességüket *in vivo*.
5. Mivel korábbi eredmények azt mutatták, hogy HDAC gátlás hatására a PMCA4b expresszió megnövekedett emlő- és vastagbélrák sejtekben, melanóma sejtvonalakat HDAC gátlószerekkel önmagában, illetve BRAF gátlószerrel együttesen kezeltünk. Ezt követően tanulmányoztuk a PMCA fehérjék kifejeződését, sejten belüli elhelyezkedését és aktivitását, valamint jellemeztük a sejtek migrációs képességét.

Módszerek

Sejtvonalak

Kísérleteinkben a HeLa méhnyakrák sejtvonalat és négy melanóma sejtvonalat használtunk: BRAF/NRAS vad típusú MEWO, NRAS mutáns MJZJ és a két BRAF mutáns A375 és A2058 sejteket. Az sh-HeLa sejtvonalakat a PMCA4 shRNA plazmid és a kontrol shRNA plazmid-A stabil transzfekciójával állítottuk elő.

HeLa sejtek ideiglenes transzfekciója

HeLa sejteket egyidejűleg transzfektáltunk valamelyik mCherry-vel jelölt PMCA vektorral (mCherry-PMCA4b, mCherry-PMCA4b-LA, mCherry-PMCA4a vagy mCherry-PMCA2b) és a genetikailag kódolt Ca^{2+} jelző fehérjét (GCaMP2) tartalmazó vektorral. A transzfekcióhoz FuGENE HD transzfekciós reagenst használtunk.

Anyagok

A melanóma sejtek kezeléséhez használtunk: mutáns BRAF (V600E) inhibitor vemurafenib (PLX4032) és GDC0879, MEK inhibitor selumetinib, HDAC gátlószerek nátrium-valproát és Vorinostat (SAHA). Két különböző PMCA4b inhibitor alkalmaztunk a LaCl_3 -t és egy peptid típusú gátlószert, caloxin 1c2-t, hogy teszteljük a PMCA funkcionális szerepét.

Ca^{2+} szignál mérések

Az sejten belüli Ca^{2+} koncentráció változásának követésére a genetikailag kódolt Ca^{2+} indikátort GCaMP2-t vagy Fluo-4 AM zöld fluoreszcens Ca^{2+} jelző molekulát használtuk. Raktár függő Ca^{2+} belépést két lépésben váltottunk ki. Először a sejteket névlegesen Ca^{2+} mentes oldatban tartva kiürítettük a sejten belüli Ca^{2+} raktárakat thapsigargin és ATP hozzáadásával. Majd raktárfüggő Ca^{2+} belépést váltottunk ki azáltal, hogy a külső közegben a Ca^{2+} koncentrációt 2 mM-ra állítottuk vissza. Ca^{2+} szignált A23187 ionofórral is indukáltunk 2 mM-os Ca^{2+} koncentráció mellett.

Fehérje meghatározás

A sejtekből 6%-os TCA-val az összfehérjét kicsaptuk, majd ülepitést követően a Laemmli-féle mintafellevő pufferben feloldottuk. A mintákat Western-blot módszerrel analizáltuk.

Immunofluoreszcens festés

A sejteket 4%-os paraformaldehid oldatban fixáltuk, majd permeabilizáltuk. A mintákat először PMCA4b elleni elsődleges ellenanyaggal, majd Alexa Flour 488-kapcsolt anti-egér IgG másodlagos ellenanyaggal jelöltük. A felvételeket Olympus IX-81 és Zeiss LSM500 konfokális pásztázó mikroszkóppal készítettük.

Kvantitatív PCR

A sejtekből totál RNS-t izoláltunk majd reverz transzkripciót végeztünk. A kvantitatív valós idejű PCR reakciót vagy SYBR Green master mix-szel, vagy TaqMan esszével végeztük.

Sejtosztódás meghatározása

A sejtosztódás sebességét BrdU beépülésen alapuló kolorimetriás teszttel határoztuk meg.

Sejt-életképesség és sejtciklus analízis

A sejt-életképesség meghatározáshoz a sejteket kétféle festéssel, Acridine Orange és DAPI, jelöltük meg. Az életképességet, mint teljes sejtszám – nem életképes sejtek / teljes sejtszám számoltuk ki. A sejtek arányát az egyes sejtciklus fázisokban DNS tartalmuk alapján határoztuk meg. Mindkét méréshez a NucleoCounter NC-3000™ rendszert használtuk.

Sejtmozgás vizsgálata

A melanóma sejtek random mozgását fázis kontraszt videomikroszkóppal vagy fluoreszcens sejtmag követő rendszerrel határoztuk meg. A sejtek irányított mozgását módosított Boyden chamber esszével vizsgáltuk, ahol fibronektint alkalmaztunk mint kemoattraktánst.

Tüdő kolonizációs esszé

A375-GFP és két egymástól függetlenül létre hozott PMCA4b-t expresszáló A375-GFP-PMCA4b (I és II) sejteket juttatunk be 11 hetes, nőstény SCID egerekbe farokvénán keresztül. 6 hét után az egereket feláldoztuk majd a tüdő és daganat szöveteket a mellkasból kivettük. Parafinba történő beágyazást követően a hematoxylin-eozin festett metszetek TissueFAXS rendszerrel analizáltuk.

Eredmények

A különböző PMCA izoformák eltérően befolyásolják a sejten belüli Ca^{2+} jeleket

Az egyes PMCA izoformák jelentősen különböznek kinetikai jellemzőikben. A különböző ingerületi hatásokra megemelkedő Ca^{2+} -kalmodulin komplex általi aktivációjuk alapján megkülönböztetünk gyors és lassú pumpákat, míg attól függően mennyi ideig marad fenn az aktív állapot a stimulust követően, rövid vagy hosszú memóriájú pumpákról beszélünk. HeLa sejtekben három PMCA fehérje (PMCA4b, PMCA2b, PMCA4a) hatását vizsgáltuk a raktárfüggő kalcium belépését követő vagy ionofórral kiváltott Ca^{2+} jel mintázatára. A lassan aktiválódó, de hosszú memóriájú PMCA4b a megemelkedett Ca^{2+} koncentrációt viszonylag gyorsan visszaállította az eredeti szintre, amit hosszantartó periodikus alapszintű oszcilláció követett. A gyorsan aktiválódó, de rövid memóriájú PMCA4a jelenlétében a gyors növekedés után a sejten belüli Ca^{2+} szint sebesen csökkeni kezdett, viszont a Ca^{2+} koncentráció nem tért vissza az eredeti nyugalmi állapotba, hanem egy megemelkedett egyensúlyi szinten megállt. Azokban a sejtekben, amelyek a gyorsan aktiválódó és hosszú memóriájú PMCA2b-t fejezték ki, a feleslegben lévő Ca^{2+} gyorsan kiürült a sejtekből és csak egy egyedi Ca^{2+} túske kialakulása volt megfigyelhető. Eredményeink azt mutatják, hogy a PMCA fehérjék egyedi módon befolyásolják a beérkező Ca^{2+} jeleket.

BRAF mutáns melanóma sejtekben BRAF inhibitor kezelés hatására megemelkedik a PMCA4b fehérje kifejeződése és a Ca^{2+} eltávolítás sebessége

Kísérleteinkben két BRAFV600E mutáns (A375, A2058), egy NRAS mutáns (M21V) és egy BRAF és NRAS vad típusú (MEWO) melanóma sejtvonalat kezeltünk mutáns BRAF specifikus vagy MEK gátlószerekkel. Azt tapasztaltuk, hogy BRAF inhibitor kezelés hatására, a PMCA4b fehérje kifejeződése szelektíven a BRAF mutáns sejtekben megemelkedett, míg a MEK kináz gátlását követően a fehérje szintje a BRAF és az NRAS mutáns sejtekben is egyaránt megnőtt. Bemutattuk, hogy a BRAF vagy MEK gátlószerekkel kezelt sejtekben a megemelkedett PMCA4b a plazmamembránban helyezkedett el. Megvizsgáltuk a többlet PMCA4b hatását a citoszolikus Ca^{2+} jelekre és úgy találtuk, hogy Ca^{2+} eltávolítás sebessége megnőtt a BRAF gátlószerekkel kezelt sejtekben raktárfüggő Ca^{2+} beáramlást követően és Ca^{2+} ionofór kezelés után is. Figyelemre méltó, hogy ha az általános PMCA ($LaCl_3$) vagy a PMCA4 specifikus (caloxin 1c2) inhibitorral

gátoltuk a PMCA4b aktivitását, akkor a Ca^{2+} szignálban a kontrol sejtéhez hasonló lassabb csökkenési fázist figyelhattunk meg. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a megemelkedett PMCA4b felelős a stimulust követő gyorsabb Ca^{2+} kiáramlásért a BRAF gátlószerrel kezelt BRAF mutáns sejtekben.

A megemelkedett PMCA4b fehérjeszint csökkenti a sejtek migrációját és áttétképző képességét A375 melanóma sejtekben

Megvizsgáltuk két BRAF mutáns és egy BRAF vad típusú sejt vonalban, hogy hogyan befolyásolja a sejtek mozgását a BRAF gátlószer kezelés. Fázis kontraszt videó-mikroszkóppal követtük egyedi sejtek mozgását a háromnapos kezelési időszak alatt. Azt tapasztaltuk, hogy a második napot követően a sejtek mozgása jelentősen lecsökkent a BRAF mutáns sejt vonalakban. A migrációra kifejtett gátló hatás és a PMCA4b fehérje szintjének jelentős megemelkedése azonos időben, a kezelést követően 48 órával volt megfigyelhető. Annak érdekében, hogy megvizsgáljuk, hogy a PMCA4b fehérje mennyisége miként befolyásolja a melanóma sejtek migrációs képességét, a PMCA4b-t stabilan kifejező sejt vonalakat hoztunk létre a BRAF mutáns A375 és a BRAF vad típusú MEWO sejtekből. A sejtek mozgása jelentősen lecsökkent a két egymástól függetlenül létre hozott A375-GFP-4b sejt vonalban a kontrol csak GFP-t kifejező sejtekhez képest, még a MEWO sejtek migrációs képessége nem változott. Érdekes módon, a PMCA4b-t kifejező A375 sejtek morfológiája is megváltozott. Míg a kontrol sejtek alakja elnyúlt volt számos hosszú nyúlvánnyal, addig a PMCA4b-t túltermelő sejtek kerekesebb, az epithél sejtekhez hasonló morfológiát mutattak. Összehasonlítottuk az eredeti, a GFP-vel jelölt és a két PMCA4b-t kifejező A375 sejt vonalak osztódási sebességét, de nem tapasztaltunk közöttük jelentős eltérést. Ahhoz hogy a kontrol és PMCA4b-t kifejező sejtek áttétképző képességét összemérjük tüdő kolonizációs esszét végeztünk el egerekben. A GFP-t kifejező A375 sejtek nagyméretű daganatokat hoztak létre a tüdő szövetben. Azonban abban a két csoportban, melyekben az egereket a PMCA4b kifejező sejtekkel oltottuk be, vagy nem alakult ki tumor, vagy csak kisméretű csomók formálódtak a tüdő felszínén vagy az azt körülvevő kötőszövetben. Eredményeink azt mutatják, hogy a PMCA4b képes szabályozni a BRAF mutáns A375 sejtek migrációs és áttétképző képességét.

Hisztion deacetiláz gátlás, az ERK fehérje aktivációjától függetlenül, növeli a PMCA4b fehérje kifejeződését és csökkenti a melanóma sejtek mozgását

Mivel korábbi eredmények azt mutatták, hogy hisztion deacetiláz (HDAC) gátlás hatására a PMCA4b expressziója megnő rákos sejtekben, megvizsgáltuk két HDAC gátlószer hatását a PMCA4b kifejeződésére melanóma sejtekben. Azt tapasztaltuk, hogy a kezelések hatására a PMCA4b szintje mind a BRAF mutáns, mind a BRAF vad típusú sejtekben megemelkedett. Elemeztük az HDAC és a BRAF gátlószer kombinált hatását a PMCA4b kifejeződésére, de hatásuk nem volt additív. Érdekes módon, szemben a vemurafenib kezeléssel, az HDAC gátlás nem okozott csökkenést az ERK fehérje aktivációjában. Ez arra utal, hogy a HDAC gátlószer hatása a PMCA kifejeződésre független az ERK aktivációjától ezekben a sejtekben. Bemutattuk, hogy az HDAC gátlás követően a többlet PMCA4b a plazmamembránban helyezkedett el és fokozódott a Ca^{2+} eltávolítás sebessége a sejtekből. Ha azonban PMCA4b specifikus inhibitorral kezeltük a sejteket a Ca^{2+} eltávolítás sebessége jelentősen csökkent, ami a PMCA4b szerepét igazolja a Ca^{2+} szignál mintázatának kialakításában. Megvizsgáltuk a HDAC inhibitor kezelés hatását önmagában és vemurafenibbel együttesen a sejtek életképességére és sejtciklusbeli eloszlására is. Azt tapasztaltuk, hogy a HDAC gátlás csak kismértékben befolyásolta a sejtek osztódását és életképességét, de a hatás kissé fokozódott a kombinált kezelést követően a BRAF mutáns setvonalakban. Mivel az A375 sejtekben valproát kezelés hatására a PMCA4b expressziója hasonló mértékben növekedett meg a BRAF gátlószer kezelést követően, megvizsgáltuk a valproát kezelés hatását a sejtek migrációjára. Azt tapasztaltuk, hogy az A375 sejteknek mind a random, mind az irányított mozgása lecsökkent valproát kezelés hatására és a PMCA4b specifikus gátlószer caloxin 1c2 előkezelés ezt csökkenteni tudta. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a PMCA4b fontos szerepet játszik a BRAF mutáns A375 melanóma sejtek mozgásának szabályozásában.

Következtetések

1. Az egyes PMCA izoformák eltérő kinetikai tulajdonságaiknak köszönhetően különbözőképpen befolyásolják a raktárfüggő Ca^{2+} belépést követő Ca^{2+} szignál mintázatát.
2. A BRAF/MEK/ERK jelátviteli útvonal gátlása a PMCA4b kifejeződésének szelektív emelkedését okozta a BRAF mutáns melanóma sejtekben, és ez együtt járt a sejtekből történő Ca^{2+} eltávolítás sebességének növekedésével.
3. A PMCA4b A375 sejtekben történő kifejezése jelentősen megváltoztatta a sejtek alakját és lecsökkentette azok migrációs és áttétképző képességét. Érdekes módon, még a PMCA4b expressziója a sejtek mozgását erősen gátolta, addig a sejtosztódás sebességét nem befolyásolta, ami a metasztázis szupresszor fehérjék egyik jellemzője.
4. A PMCA4b kifejeződése hiszton deacetiláz gátlószer kezelés hatására is megnövekedett melanóma sejtekben, de szemben a vemurafenib kezeléssel, ez a hatás független volt az ERK fehérje aktivációjától. HDAC gátlás fokozta a Ca^{2+} eltávolítás sebességét és csökkentette a sejtek mozgását, és ez a hatás függött a PMCA4b aktivitásától. Ezek az eredmények is alátámasztják, hogy a PMCA4b fontos szerepet játszik a melanóma sejtek migrációjának szabályozásában.

A dolgozat alapjául szolgáló publikációk:

1. **Hegedűs L**, Padányi R, Molnár J, Pászty K, Varga K, Kenessey I, Sárközy E, Wolf M, Grusch M, Hegyi Z, Homolya L, Aigner C, Garay T, Hegedűs B, Tímár J, Kállay E, Enyedi A. " Histone Deacetylase Inhibitor Treatment Increases the Expression of the Plasma Membrane Ca²⁺Pump PMCA4b and Inhibits the Migration of Melanoma Cells Independent of ERK. " *Front. Oncol.*, 24 May 2017, <https://doi.org/10.3389/fonc.2017.00095>
2. **Hegedűs L**, Garay T, Molnar E, Varga K, Bilecz A, Torok S, Padanyi R, Paszty K, Wolf M, Grusch M, Kallay E, Dome B, Berger W, Hegedus B, Enyedi A." The plasma membrane Ca²⁺ pump PMCA4b inhibits the migratory and metastatic activity of BRAF mutant melanoma cells. " *Int J Cancer*. 2017 Jun 15;140(12):2758-2770. Epub 2016 Nov 17.
3. Pászty K, Caride AJ, Bajzer Ž, Offord CP, Padányi R, **Hegedűs L**, Varga K, Strehler EE, Enyedi A. "Plasma membrane Ca²⁺-ATPases can shape the pattern of Ca²⁺ transients induced by store-operated Ca²⁺ entry. " *Sci Signal*. 2015 Feb;8(364):ra19.

A dolgozathoz kapcsolódó további publikációk:

- Padányi R, Pászty K, **Hegedűs L**, Varga K, Papp B, Penniston JT, Enyedi Á. "Multifaceted plasma membrane Ca²⁺ pumps: From structure to intracellular Ca²⁺ handling and cancer. " *Biochim. Biophys. Acta*. 2016 Jun;1863(6 Pt B):1351-63. doi: 10.1016/j.bbamcr.2015.12.011. Epub 2015 Dec 17. Review
- Varga K, Pászty K, Padányi R, **Hegedűs L**, Brouland JP, Papp B, Enyedi A. "Histone deacetylase inhibitor- and PMA-induced upregulation of PMCA4b enhances Ca²⁺ clearance from MCF-7 breast cancer cells. " *Cell Calcium*. 2014 Feb;55(2):78-92.
- Penniston JT, Padányi R, Pászty K, Varga K, **Hegedus L**, Enyedi A. "Apart from its known function, the plasma membrane Ca²⁺ATPase can regulate Ca²⁺ signaling by controlling phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate levels. " *J Cell Sci*. 2014 Jan 1;127(Pt 1):72-84.

Antalffy G, Pászty K, Varga K, **Hegedűs L**, Enyedi A, Padányi R. "C-terminal di-leucine motif controls plasma membrane expression of PMCA4b." *Biochim Biophys Acta*. 2013 Dec;1833(12):2561-72.

Antalffy G, Mauer AS, Pászty K, **Hegedus L**, Padányi R, Enyedi A, Strehler EE. (2012). "Plasma membrane calcium pump (PMCA) isoform 4 is targeted to the apical membrane by the w-splice insert from PMCA2." *Cell Calcium*. 51(2):171-178.

Antalffy G, Caride AJ, Pászty K, **Hegedus L**, Padanyi R, Strehler EE, Enyedi A. (2011). "Apical localization of PMCA2w/b is enhanced in terminally polarized MDCK cells." *Biochem Biophys Res Commun*. 410(2):322-327.

A dolgozathoz nem kapcsolódó publikációk:

Apáti Á, Pászty K, **Hegedűs L**, Kolacsek O, Orbán TI, Erdei Z, Szabó K, Péntek A, Enyedi Á, Sarkadi B. "Characterization of calcium signals in human embryonic stem cells and in their differentiated offspring by a stably integrated calcium indicator protein." *Cell Signal*. 2013 Apr;25(4):752-9.

Arbabian A, Brouland JP, Apáti A, Pászty K, **Hegedűs L**, Enyedi Á, Chomienne C, Papp B. "Modulation of endoplasmic reticulum calcium pump expression during lung cancer cell differentiation." *FEBS Journal* 280 (2013) 5408–5418

Hegedus L, Hyojin C, Xian X, Eliceiri G. (2008). "Additional MDA-MB-231 Breast Cancer Cell Matrix Metalloproteinases Promote Invasiveness." *J Cell Physiol*. 216: 480–485.

Pászty K, Antalffy G, **Hegedus L**, Padanyi R, Penheiter AR, Filoteo AG, Penniston JT , Enyedi A. (2007). "Cleavage of the plasma membrane Ca⁺ATPase during apoptosis." *Ann N Y Acad Sci*. 1099: 440-450.