

Debreceni Egyetem

Természettudományi és Technológiai Kar

Biotechnológiai Intézet



**BIOTECHNOLÓGIA A DEBRECENI
EGYETEMEN TUDOMÁNYOS
SZIMPÓZIUM**

Program és összefoglalók

Debreceni Akadémiai Bizottság Székháza

Debrecen, Thomas Mann u. 49.

2019. november 21.

**BIOTECHNOLÓGIA A DEBRECENI
EGYETEMEN TUDOMÁNYOS
SZIMPÓZIUM**

Program és összefoglalók

Debreceni Akadémiai Bizottság Székháza

Debrecen, Thomas Mann u. 49.

2019. november 21.

A SZIMPÓZIUM SZERVEZŐI

Debreceni Egyetem Természettudományi és Technológiai Kar

Biotechnológiai Intézet

Molekuláris Biotechnológiai és Mikrobiológiai Tanszéke

Biomérnöki Tanszéke

Genetikai és Alkalmazott Mikrobiológiai Tanszéke

SZERVEZŐBIZOTTSÁG

Prof. Dr. Pócsi István tanszékvezető, egyetemi tanár

Dr. Domonkos Dávid intézetigazgató, tudományos főmunkatárs

Gálné Dr. Miklós Ida tanszékvezető, egyetemi docens

Dr. Karaffa Levente tanszékvezető, egyetemi docens

Dr. Jakab Ágnes egyetemi adjunktus

RENDEZVÉNY TÁMOGATÓJA

Az EFOP-3.6.1-16-2016-00022 számú, "Debrecen Venture Catapult Program" című projekt. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

Szakmai vezető: Jutkusz Lilla Krisztina

Alprojekt vezető: Prof. Dr. Kun Ferenc,

a DE TTK dékánja



BIOTECHNOLÓGIA A DEBRECENI EGYETEMEN
TUDOMÁNYOS SZIMPÓZIUM

Részletes program

13:00 Regisztráció

13:30 Megnyitó

Prof. Dr. Szilvássy Zoltán a Debreceni Egyetem rektora

Moderátorok: Prof. Dr. Pócsi István és Dr. Karaffa Levente

MIKROBIÁLIS ÉS KÖRNYEZET-BIOTECHNOLÓGIA

13:35–13:45 Molnár Ákos Péter, Pongó Zsófia, Mizersák Anita, Kántor Andor Attila, Szegvári Dóra, Németh Zoltán, Fekete Erzsébet, Karaffa Levente

A cianid-rezisztens alternatív oxidáz fungális fiziológiában és metabolit termelésben betöltött szerepe

13:45–13:55 Szabó Zsuzsa, Pákozdi Klaudia, Murvai Katalin, Pusztahelyi Tünde, Kecskeméti Ádám, Gáspár Attila, Hornok László, Ádám L. Attila, Leiter Éva, Emri Tamás, Pócsi István

A bZIP típusú transzkripciós faktort kódoló *FvatfA* gén szerepe a *Fusarium verticillioides* szekunder metabolit-termelésében és virulenciájában

13:55–14:05 Németh Zoltán, Kulcsár László, Michel Flipphi, Maria Victoria Aguilar-Pontes, Ronald P. de Vries, Karaffa Levente, Fekete Erzsébet

A D-galaktóz és az L-arabinóz lebontás kölcsönhatásainak vizsgálata *Aspergillus nidulans* gombában

14:05–14:15 Király Anita, Hámori Csaba, Gyémánt Gyöngyi, E. Kövér Katalin, Pócsi István, Leiter Éva

A glicerín-3-foszfát dehidrogenáz (*gfdB*) gén szerepe az *Aspergillus nidulans* és *Aspergillus glaucus* oxidatív stresszválaszában

14:15–14:25 Kavalecz Napsugár, Ág Norbert, Karaffa Levente, Michel Flipphi, Péntes Fruzsina, Fekete Erzsébet

Fungális stwintronok (spliceoszómális iker-intronok) szerepe alternatív splicinghoz köthető mechanizmusokban

14:25–14:35 Ács-Szabó Lajos, Papp László Attila, Csoma Hajnalka, Sipiczki Mátyás, Miklós Ida

Különböző gomba nemzetségek komparatív genomikai vizsgálata vonal-specifikus átrendeződési dinamikát sejtet

14:35–14:45 Horváth Enikő, Miklós Ida

Környezeti tényezők hatása a *Metschnikowia* élesztők pigmenttermelésére

14:45–14:55 Boczonádi Imre, Jakab Ágnes, Baranyai Edina, Tóth Noémi Csilla, Daróczi Lajos, Csernoch László, Kis Gréta, Antal Miklós, Pusztahelyi Tünde, Anja Grawunder, Dirk Merten, Emri Tamás, Fábrián István, Erika Kothe, Pócsi István

***Aspergillus oryzae* potenciális alkalmazásának lehetőségei ritkaföldfémek bioszorpciójában**

KÁVÉSZÜNET

Moderátorok: Gálné Dr. Miklós Ida és Dr. Domonkos Dávid

MEZŐGAZDASÁGI BIOTECHNOLÓGIA

15:15–15:25 Gulyás Andrea, Dobránszki Judit, Hidvégi Norbert

DNS metiláció és génextpresszió összefüggései alma modellnövényben

15:25–15:35 Kovács Zoltán, Kaszás László, Koroknai Judit, Alshaal Tarek, Elhawat Nevien, El-Ramady Hassan, Domokos-Szabolcsy Éva, Fári Miklós
Fókuszban a Climate-Smart mezőgazdaság és a körforgásos gazdálkodás: a zöld biofinomítás újabb debreceni eredményei Lucerna (*Medicago sativa* L.) példáján

ORVOSI ÉS FOGORVOSI BIOTECHNOLÓGIA

15:35–15:45 Tóth Márta, Gyöngyösi Adrienn, Horváth Dorottya, Mányiné Siket Ivetta, Bánhegyi Viktor, Tóth Attila, Bácsi Attila

Humán angiotenzin konvertáló enzim 2 (ACE2)-specifikus monoklonális ellenanyagok előállítása és funkcionális tesztelése

15:45–15:55 Bakó József, Czibulya Zsuzsanna, Szalóki Melinda, Tóth Ferenc, Bágyi Kinga, Hegedűs Csaba

Fogászati célra alkalmazható fotopolimerizálható biopolimer alapú nanoszálak kialakítási lehetőségei

15:55–16:05 Vadkerti Bence, Nagy Lajos, Nagy Miklós, Daróczi Lajos, Deák György, Zsuga Miklós, Kéki Sándor

Szacharóz tartalmú poliuretán scaffoldok előállítása és karakterizálása

GYÓGYSZER-BIOTECHNOLÓGIA

16:05–16:15 Harda Kristóf, Szabó Zsuzsanna, Oláh Gábor, Szabó Erzsébet,
Dobos Nikoletta, Halmos Gábor

A szomatosztatin receptorok, mint molekuláris célpontok a humán uveális melanomában

16:15–16:25 Domonkos Dávid

Egyszer használatos és hagyományos termelő berendezések használata a piros biotechnológiában üzleti szempontból

16:25 Zárszó

Prof. Dr. Kun Ferenc a Debreceni Egyetem Természettudományi és Technológiai Kar dékánja

16:30–17:00 Poszter bemutató és kötetlen beszélgetés a középiskolás hallgatókkal

BÜFÉVACSORA

16:30–17:00 **POSZTERSZEKCIÓ (részletes program)**

1. Fejes Balázs, Németh Zoltán, Molnár Ákos Péter, Fekete Erzsébet, Soós Áron, Kovács Béla, Karaffa Levente

A mangán ion kioldódás mechanizmusai *Aspergillus niger* citromsav fermentációk során

2. Kolláth István Sándor, Fekete Erzsébet, Karaffa Levente

Az *Aspergillus terreus* gomba itakonsav termelésének vizsgálata D-xilóz, illetve xilitol szénforrásokon

3. Pákozdi Klaudia, Szabó Zsuzsa, Nagy-Köteles Csaba Alfréd, Gila Cs. Barnabás, Murvai Katalin, Pusztahely Tünde, Kecskeméti Ádám, Gáspár Attila, Hornok László, Ádám L. Attila, Pócsi István, Leiter Éva

A mangán szuperoxid-dizmutáz gén szerepe az oxidatív stresszel szembeni védekezésben, valamint a légzésben és az apoptotikus folyamatokban, *Fusarium verticillioides*ben

4. Gila Cs. Barnabás, Kenyeres Zoltán, Antal Károly, Pócsi István, Emri Tamás

A stressz hatása az *Aspergillus nidulans* fonalas gomba szekunder anyagcseréjére

5. Kocsis Beatrix, Tillman Barbara, Leiter Éva, Pócsi István

Transzkripciós faktort túltermelő mutánsok előállítása és jellemzése *Aspergillus nidulans*ban

6. Ág Norbert, Kavalecz Napsugár, Péntes Fruzsina, Karaffa Levente, Claudio Scazzocchio, Michel Flippi, Fekete Erzsébet

A spliceoszómális iker-intronok (stwintron) szerepe az alternatív splicing két típusában

7. Dályai Livia, Csoma Hajnalka, Miklós Ida

***Metschnikowia fructicola* mutáns törzsek pulcherriminsav termelő képességének spektrofotometriás meghatározása**

8. Imre Alexandra, Rácz Hanna Viktória, Antunovics Zsuzsa, Kovács Renátó, Rádai Zoltán, Pócsi István, Ksenija Lopandic, Pfliegler Walter

A *Saccharomyces cerevisiae* fertőzések diagnózisa és a faj patogenitásának vizsgálata

9. Nagy-Köteles Csaba, Barta Endre, Szabó Krisztina, Jakab Ágnes, Emri Tamás, Nagy Tibor, Dombrádi Viktor, Pócsi István

A *Candida albicans* allélspecifikus génexpressziójának elemzése bioinformatikai módszerekkel

10. Tóth Ferenc, Szilágyi Ildikó, Czibulya Zsuzsanna, Bakó József, Turáni Melinda, Tóth-Györi Enikő, Nagy Gábor, Lázár István, Pócsi István, Hegedűs Csaba

Különböző hőmérsékleten kezelt szilika aerogélek csont irányú differenciálódást elősegítő hatásának „in vitro” vizsgálata

11. Kordován Marcell Árpád, Nagy Lajos, Vadkerti Bence, Batta Gyula, Fehér Péter Pál, Zsuga Miklós, Kéki Sándor

A biokompatibilis poliuretán alapú polimerek térhálósítójaként alkalmazott szacharóz reaktivitásának vizsgálata fenil-izocianáttal

12. Hidvégi Norbert, Gulyás Andrea, Virányi Pálné, Dobránszki Judit
Burgonya *Rm* és *Ns* gén lókuszok molekuláris genetikai markerezése

13. Barna Döme, O. Tóth Ibolya, Fári Miklós Gábor és Bákonyi Nóra
A növényi savó (barnalé) melléktermék gyakorlati hasznosítási lehetőségei

Előadások összefoglalói

(az első szerző nevének betűrendjében)

Különböző gomba nemzetségek komparatív genomikai vizsgálata vonal-specifikus átrendeződési dinamikát sejtet

Ács-Szabó Lajos, Papp László Attila, Csoma Hajnalka, Sipiczki Máttyás & Miklós Ida

Debreceni Egyetem, TTK, Genetikai és Alkalmazott Mikrobiológiai Tanszék

A fonalas, valamint az élesztő gombák nagy érdeklődésre tartanak számot napjainkban is. Egy részük kiváló modellszervezet (pl. *S. cerevisiae*, *S. pombe*, *N. crassa*), míg mások az általuk termelt metabolitok miatt érdekesek (pl. *Penicillium*- és *Aspergillus*-fajok). Jelenthetnek egészségügyi (bizonyos *Candida*-fajok) vagy mezőgazdasági kockázatot (*Fusarium*-fajok), de nekik köszönhetjük a kenyeret vagy például a bort is. Mindezek mellett számos evolúcióbíológiai jelenség (teljes genom duplikáció, kompenzáló evolúció, retikuláció) megértéséhez is hozzájárulnak a gombákkal végzett összehasonlító analízisek.

A hasadó élesztők (*Schizosaccharomyces*) egy különleges csoportja az Aszkomikóták törzsének. A nemzetség ismert fajai között jelentős a filogenetikai távolság, ennek ellenére rendkívül konzerváltak a genomjaik géntartalmát tekintve. Korábbi munkánk ugyanakkor rávilágított arra is, hogy meglehetősen sok átrendeződés érte a kromoszómáikat a fajok divergenciája során.

Ezért jelen tanulmányunkban célul tűztük ki a hasadó élesztők szekvencia- és strukturális evolúció dinamikájának összehasonlítását más nemzetségek értékeivel. Ezek az információk közvetett módon felhasználhatók biotechnológiai célokra is, hiszen a törzsfeljesztéseknél célszerű ezeket is figyelembe venni.

Analízisünkhöz 30 gomba fajt szelektáltunk különböző kládokból, amelyek genomja közel kromoszóma szintű összeszerelési állapotban volt. A kontroll csoportok kiválasztásánál szempont volt az is, hogy az egyes nemzetségek vagy rendelkezzenek legalább 4 fajjal, vagy legyenek közeli rokonok.

A szekvencia evolúció vizsgálatához kiválasztottunk 18 protein szekvenciát a hasadó élesztők kromoszómáiról, amelyek evolúciós rátája 0,01 és 0,5 között volt. E szekvenciák segítségével megkerestük és kigyűjtöttük a feltételezett ortológokat a többi fajból is. A szekvenciák alkalmasságának tesztelése után meghatároztuk a szubsztitúciós rátákat az egyes genuszokon belül. Ezt követően teljes genom-szekvencia illesztéseket hajtottunk végre a korábban létrehozott filogenetikai fák topológiájának megfelelően. Az illesztések segítségével meghatároztuk a fajok közös kolineáris régióit, majd azok segítségével átrendeződési analízist végeztünk. Így képet kaphattunk a fajok kromoszómáinak strukturális változásairól is. Mindezek után összehasonlítottuk a genusz-specifikus szubsztitúciós rátákat (S/S) a multi-kromoszómális disztancia (MCD) értékeivel. Azt tapasztaltuk, hogy a fonalas fajoknál inkább az átrendeződések száma volt a nagyobb, míg az élesztő fajcsoportoknál a szekvenciabeli változások domináltak.

A genuszokon belül páronkénti összehasonlítások segítségével megvizsgáltuk az átrendeződések lehetséges típusait és azok számát is. A hasadó élesztő nemzetségen belül például az interkromoszómális transzlokációk domináltak kisebb filogenetikai távolság esetén, az inverziók száma a távolság növekedésével került csak túlsúlyba.

Fogászati célra alkalmazható fotopolimerizálható biopolimer alapú nanoszálak kialakítási lehetőségei

Bakó József¹, Czibulya Zsuzsanna¹, Szalóki Melinda¹, Tóth Ferenc¹, Bágyi Kinga², Hegedüs Csaba¹

¹Bioanyag-tani és Fogpótlástani Tanszék, Fogorvostudományi kar, Debreceni Egyetem,

²Konzerváló Fogászati Tanszék, Fogorvostudományi kar, Debreceni Egyetem

Az elektrospinning napjainkban egyre elterjedtebben alkalmazott technika a különböző biopolimerek mikrométer alatti mérettartományokban történő formulázása során. Az elektrospinninggel előállítható nanoszálak méreteloszlása és az kialakítható szerkezetek kiválóan alkalmasak az extracelluláris mátrixhoz hasonló szerkezetek kialakítására. A felhasználható biopolimerek változatossága és a szerves és szervetlen alkotók kombinálhatóságának lehetősége, pedig számos orvos biológiai felhasználási lehetőséget rejt magában. A szálátmérő szabályozási lehetőségek, a kialakítható szerkezetek pórusátmérőinek a változtatási lehetősége a sejtek számára jelenthet ideális lehetőséget a kitapadásra, és a különböző differenciálódási irányok megindulására, míg a különböző jellegű alkotók együttes alkalmazásával a hatóanyagok megfelelő dinamikával történő felszabadulását érhetjük el. Az szervetlen komponensek alkalmazásával kialakítható szálak pedig már a szövettervezés és regeneráció egyre hatékonyabb megvalósítása felé mutathatnak, a megfelelő teherviselő szerkezetek kialakítási lehetőségeivel.

Tanszékünkön 15m/m%, 50n/n%-ban keresztkötött és 50n/n%-ban metakrilált-poli(γ -glutaminsavat)(MPGA-NP) és 10m/m% poli(vinil-alkoholt) (18-88 Ph Eur. Merck) (PVA) tartalmazó nanoszálakat állítottunk elő 1m/m% Irgacure 2959-t mint fotoiniciátor előzetes alkalmazása mellett. A szálak szerkezetét Nanospinner NS1 (Invenso) elektrospinning készülék segítségével állítottuk elő. A kialakított szálakat Bluephase 20i (Ivoclar Vibadent) fogászati kézi polimerizációs lámpával világítottuk meg 60 másodpercig a keresztkötések kialakításához. A kompozit polimerek biokompatibilitását SAOS2 sejtvonalon bizonyítottuk. A kialakított MPGA/PVA nanoszálak átmérői 82,1-149,2nm közé estek, $120,7 \pm 17,5$ nm átlagérték mellett. A fotopolimerizáció sikerességét, és egyben a nanoszálak hidrofób jellegének a kialakítását bizonyította a tény, hogy sem az egy hetes proliferációs vizsgálatok időtartama alatt sem a SEM vizsgálatokhoz szükséges absz. etanol közeg hatására sem oldódtak fel.

Az így kialakított szerkezetek lehetőséget biztosítanak arra, hogy a fogászat területén rutinszerűen alkalmazott kék fény hatására polimerizálható rendszereket állítsunk elő. Ezek a kompozitok a hatóanyag-leadás, az osseointegráció vagy a regenerációs folyamatok előremozdítása terén nyújthatnak lehetőséget az előrelépésre, az egyre gyorsabb és egyre hatékonyabb gyógyulás lépések elősegítésére.

***Aspergillus oryzae* potenciális alkalmazásának lehetőségei ritkaföldfémek bioszorpciójában**

Boczonádi Imre^{1,2}, Jakab Ágnes¹, Baranyai Edina³, Tóth Noémi Csilla⁴, Daróczi Lajos⁵, Csernoch László⁶, Kis Gréta⁷, Antal Miklós⁷, Pusztahelyi Tünde⁸, Anja Grawunder⁹, Dirk Merten⁹, Emri Tamás¹, Fábrián István^{4, 10}, Erika Kothe¹¹, Pócsi István¹

¹Molekuláris Biotechnológiai és Mikrobiológiai Tanszék, Természettudományi és Technológiai Kar, Debreceni Egyetem, Debrecen

²Juhász-Nagy Pál Doktori Iskola, Debreceni Egyetem, Debrecen

³Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszék, Agilent Atom Spektroszkópia Partner Laboratórium, Debreceni Egyetem, Debrecen

⁴Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszék, Debreceni Egyetem, Debrecen

⁵Debreceni Tudományos és Technológiai Kar, szilárdtestfizika tanszék, Debrecen

⁶Debreceni Egyetem, Orvostudományi Kar Élettani Tanszék

⁷Debreceni Egyetem, Orvostudományi Kar Anatómiai Tanszék

⁸Debreceni Egyetem, Mezőgazdasági és Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar, Mezőgazdasági és Élelmiszeripari Központi Laboratórium

⁹Földtudományi Intézet, Kémia és Földtudományi Kar, Friedrich Schiller Egyetem, Jena, Németország

¹⁰MTA – DE Redox és Homogén katalitikus reakciómechanizmusok kutatócsoportja

¹¹Mikrobiológiai Intézet, Biológiai tudományok Kar, Friedrich Schiller Egyetem, Jena, Németország

Az elmúlt években a fémszennyezés vált korunk egyik legnagyobb környezeti problémájává. Számos iparág, mely gyors fejlődést mutat, közvetve vagy közvetlenül is károsítja a környezetet fémtartalmú hulladékaikkal. Sokféle technológiai megoldás ismert ezen szennyezők eltávolítására, ám ezek mind rendkívül költségesek. Esszenciálissá vált egy új költséghatékony módszer kifejlesztése, mellyel jó hatással eliminálhatók a fémszennyezők. Az *Aspergillus oryzae* gomba biomassza, nagy mennyiségben, könnyen előállítható a fermentációs folyamatok melléktermékeként, mely így jó alternatívája lehet az értékes fémek bányavizekből történő visszanyerésének. A természetes körülményeket tükröző (Ronneburg, Németország), komplex, több fázisú teszt oldatban (Li, Mg, Al, Fe, Ni, Zn) a ritkaföldfémek (Y, Ce, Nd) specifikus bioszorpcióját figyeltük meg, az Al, Fe és Ce csapadék egyidejű képződése mellett. Érdekes, hogy míg a Ce kicsapódása/bioszorpciója (6 órás inkubálás után a maximális bioszorpció hatékonysága $58,0 \pm 22,3\%$ volt) egybeesett a Fe, ($68,8 \pm 16,4\%$) fémoldatból történő eltávolításával, addig az Y és Nd bioszorpció hatékonysága 24 órás inkubálást követően $81,5 \pm 11,3\%$ és $87,4 \pm 9,1\%$ -nak adódott, igen nagy kiindulási Fe és Al koncentráció mellett is. Az *A. oryzae* biomassza még hosszan tartó fém expozíció után is életképes maradt. Az egyes fémekre jellemző kétfázisú kötődési mintázat valószínűsíthetően a dinamikus változó pH és NH_4^+ koncentrációkkal hozható kapcsolatba, amelyeket az *A. oryzae* biomassza éhezésekor bekövetkező fiziológiai változásai idéztek elő. Ezen folyamatok nagymértékben hozzájárultak a bioszorpció hatékonyságának javulásához. A fémek extracellulárisan csapadék formájában a sejtfalhoz kötöttek, valamint intracellulárisan a vakuólumban kicsapódva lokalizálódtak, amely a nehézfém stresszel szembeni rezisztenciát kiváltó detoxifikációs mechanizmusokkal magyarázható.

A prezentáció elkészítését az EFOP-3.6.1-16-2016-00022 számú, "Debrecen Venture Catapult Program" című projekt támogatta. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg.

Egyszer használatos és hagyományos termelő berendezések használata a piros biotechnológiában üzleti szempontból

Domonkos Dávid

Debreceni Egyetem Természettudományi és Technológiai Kar, Biotechnológiai Intézet

Az egészségügyi (piros) biotechnológiában gyakran különösen magas minőségű és nagy értékű termékek kerülnek előállításra. Alapvetően két alternatíva létezik: vagy a hagyományos, többször használatos készülékek (általában fémből), vagy a műanyag, egyszer használatos (ún. single-use, vagy disposable) alkalmazása. Ezek közötti választást leginkább a helyi adottságok mellett az üzleti stratégia dönti el.

Ugyanakkor ennek eldöntése hosszú távú elköteleződést jelent – váltani már csak a törzskönyvi adminisztráció, illetve a GMP követelményei miatt is rizikós, költséges és nagyon nehézkes.

Részletesen megvizsgálásra került több esetre gazdasági és üzleti szempontokat figyelembe véve, melyik alternatíva az előnyösebb.

Elmondható, hogy alapvetően kisebb léptékben, gyakori termékváltásnál (multi-product facility) az eldobható készülékek használata indokoltnak látszik – ugyanakkor számos más tényező is befolyásolja a végső döntést.

DNS metiláció és génexpresszió összefüggései alma modellnövényben

Gulyás Andrea¹, Dobránszki Judit¹, Hidvégi Norbert¹

¹Debreceni Egyetem AKIT Nyíregyházi Kutatóintézet, 4400 Nyíregyháza, Westsik Vilmos utca 4-6.

Az epigenetika a genetika legdinamikusabban fejlődő ága. Az epigenetika tudományterületébe tartozik a genomot érintő azon változások, amelyek a DNS szekvenciális változásain „felül” állnak. Ezen információ a genom olyan sajátossága, amely nem érinti a DNS alkotóelemeinek, nukleotidoknak a sorrendjét, ugyanakkor mind mitotikusan, mind meiotikusan átöröklődhet. Az epigenetikai szabályzás során az epigenetikai tulajdonságok megváltozásával a génexpresszió is megváltozik. Jelenlegi kutatások alapján elmondható, hogy az epigenetikai szabályozás alatt a kromatin szerkezetét befolyásoló hisztonmódosulások, DNS-metilációs mintázatok, valamint a szabályozó kisRNS-ek értendőek. Mindhárom folyamat kihatással van a pozitív vagy a negatív korrelációval a génexpresszióra. A DNS-metiláció szabályzása során a metiláció a citozinbázison történik meg, 5-metil-citozin kialakulását eredményezve. A citozinmetiláció a transzkripcionálisan nem aktív gének szabályozó régióira jellemző általában, melyből következik, hogy a DNS-metiláció valószínűleg gátolja a transzkripciót. Kutatásaink során arra kerestük a választ, hogy milyen kapcsolat figyelhető meg a DNS-metilációs mintázat és a génexpresszió között. Különös tekintettel a DNS-metiláció CpG, CHG és CHH kontextusait a génen, géntől „upstream” és „downstream” régiókban, valamint azok transzkriptom profilja között. Ezen kapcsolatok feltárására alma (*Malus x domestica*) 'McIntosh' és 'Húsvéti rozsmaring' fajták anyanövény, *in vitro* és akklimatizált környezeti tényezők között nevelt növényeit hasonlítottunk össze DNS-metilációs szint és transzkriptom profil (génexpressziós profil) alapján. A teljes DNS-metilációs profil megalkotásához Whole Genome Bisulfite Sequencing (WGBS), a transzkriptom profilhoz RNA-seq módszereket alkalmaztunk.

A szomatosztatin receptorok, mint molekuláris célpontok a humán uvealis melanomában

Harda Kristóf, Szabó Zsuzsanna, Oláh Gábor, Szabó Erzsébet, Dobos Nikoletta, Halmos Gábor

Debreceni Egyetem Gyógyszerésztudományi Kar Biofarmácia Tanszék

Uvealis melanoma (UM) a leggyakoribb elsődleges intraokuláris rosszindulatú daganatos betegség felnőtteknél, 4-5 eset/millió incidenciával. A prognózis nagyon rossz. Agresszív viselkedését bizonyítja, hogy a betegek felénél az alkalmazott kezeléstől függetlenül áttétet diagnosztizálnak, és a metasztázisban szenvedő betegek átlagos túlélése mindössze 2-8 hónap. A szomatosztatin (SST) mint hormonális neuropeptid és igen hatékony analógjai alkalmasak tumornövekedés gátlására. Receptorai (SSTR), melyek közül a hormonhoz és szintetikus analógjaihoz a legnagyobb affinitást a 2-es és az 5-ös altípus mutatja, gátló G-protein kapcsolt receptorok. A hypothalamus hormonok specifikus receptorainak felfedezése daganatos sejtekben hozzájárult a radioaktívan jelzett és citotoxikus hormon analógok kifejlesztéséhez.

Jelen tanulmányunkban célunk a humán UM szövetminták 1, -2, -3, -4, -5 típusú szomatosztatin receptor (SSTR-1-5) mRNS-expressziójának; továbbá az OCM-1 és OCM-3 humán UM sejtvonalak qRT-PCR-ral történő vizsgálata volt. A szomatosztatin receptor fehérje jelenlétét és kötési jellemzőit Western blot és ligand kötési assay vizsgálattal tanulmányoztuk.

Az SSTR-2, -5 receptorok mRNS-e kimutatható humán UM szövetmintában. Az SSTR-2 markánsan magasabb expressziót mutatott az UM szövetekben, mint az SSTR-5. Az SSTR-ok jelenlétét az UM minták 70% -ában mutatták ki ligand kötési vizsgálattal. Az öt SSTR közül az SSTR-2 és az SSTR-5 receptorok mRNS-e erősen expresszált mindkét humán UM sejtvonalban, mindemellett az SSTR-5 mutatta a legmagasabb expressziót. Az SSTR-2 és SSTR-5 receptor fehérje jelenlétét mindkét sejtvonalban Western blottal igazoltuk. A vizsgált humán UM modellek specifikus, nagy affinitású SSTR-okat mutattak ki a ligand kötési vizsgálattal.

Összefoglalva, az SSTR-2 és az SSTR-5 receptorok expressziója humán UM szövetmintákban és az OCM-1 és OCM-3 humán UM sejtvonalakban azt sugallja, hogy potenciális molekuláris célpontként szolgálhatnak a terápiában. Eredményeink elősegítik az új szomatosztatin-analógok és modern, célzott terápiára fejlesztés alatt álló citotoxikus szomatosztatin-analógok további kutatását, ezek segítségével új terápiák kifejlesztését.

Kutatási támogatás: EFOP-3.6.1-16-2016-00022 „Debrecen Venture Catapult Program”; GINOP-2.3.3-15-2016-00043 (HG); 20428-3/2018/ FEKUTSTRAT „Felsőoktatási intézményi kiválósági” Biotechnológia tématerület; „Az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-19-3 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának szakmai támogatásával készült”.

Környezeti tényezők hatása a *Metschnikowia* élesztők pigmenttermelésére

Horváth Enikő, Miklós Ida

Debreceni Egyetem, TTK, Genetikai és Alkalmazott Mikrobiológiai Tanszék

Az utóbbi évtizedekben világszerte számos kutatási program született, amelyek biokontroll ágensek felfedezésére irányultak. Az általunk tanulmányozott antagonistá hatású élesztők a *Metschnikowia* nemzetség tagjai, melyek az ún. *pulcherrimin* pigment kialakítása által fékezik a fonalas gombák növekedését.

Egy antagonista szervezetnek több kritériumnak is meg kell felelnie. Ezek a feltételek többek között az igazolt hatékonyság, kidolgozott alkalmazási eljárások, genetikai stabilitás, magas környezeti stressz tolerancia, peszticid rezisztencia valamint alkalmazhatóság kémiai, fizikai kezelésekkel.

A biokontroll ágens sikeres működését befolyásolhatja a tápközeg, melyben a szaporítása történik. A különböző tápanyagok, mint például a szén- és nitrogénforrások, nyomelemek, vitaminok, szén-nitrogén (CN) arány mind befolyásolhatják a szaporodást és a biokontroll hatékonyságát. Úgy kell létrehozni a készítményeket, hogy a kiserelő közeg olyan összetevőket tartalmazzon, melyek támogatják és akár stimulálják a biokontroll ágens működését.

A mikroorganizmusok biológiai védelemben való alkalmazásának további alapvető kritériuma az antagonista mechanizmusok folyamatos expressziója. Ezért a célunk az volt, hogy meghatározzuk hogyan befolyásolják a különböző környezeti tényezők a *Metschnikowia* élesztők antagonista hatását.

Munkánk során megállapítottuk, hogy a *Metschnikowia* élesztők esetében az antagonista hatás kifejeződésének mértékére befolyással vannak bizonyos környezeti körülmények (tápanyagforrás típusa, hőmérséklet, pH és réz-szulfát jelenléte).

A legintenzívebb pigmentképződést komplett táptalajon, alacsony pH mellett és magas hőmérsékleten figyeltük meg. Ezen túlmenően a szacharózt tartalmazó táptalajon alakult ki a legnagyobb méretű pigmentált terület az élesztők körül és ezáltal a legnagyobb átmérőjű gátló zóna. Ezek az eredmények korrelálnak a különféle szénforrások jelenlétében tapasztalt szaporodási ráta mértékével. Megállapítottuk továbbá, hogy a fungicid réz-szulfát csökkentheti a *Metschnikowia* izolátumok antagonista hatását.

Mindezen tényezőket érdemes figyelembe kell venni a vizsgált élesztőtörzsek egy esetleges későbbi kereskedelmi forgalomban történő alkalmazása során.

Fungális stwintronok (spliceoszómális iker-intronok) szerepe alternatív splicinghoz köthető mechanizmusokban

Kavalecz Napsugár^{1,2}, Ág Norbert², Karaffa Levente², Michel Flipphi², Pénzes Fruzsina^{1,2}, Fekete Erzsébet²

¹Debreceni Egyetem, Juhász-Nagy Pál Doktori Iskola

²Debreceni Egyetem, Természettudományi és Technológiai Kar, Biomérnöki Tanszék

Az intronok – nyílt leolvasási kereteket (ORF) megszakító szekvenciák az RNS-ben – felfedezése az egyik legjelentősebb hozzájárulás volt a gén koncepciójának megalkotásához. A spliceoszómális intronok kizárólag eukarióta génekben találhatóak meg, kivágásukhoz egy összetett rendszerre, a spliceoszómára van szükség, mely kis RNS molekulákból és fehérjékből tevődik össze.

A közelmúltban egyedi megszakító szekvenciákat találtunk fonalas gombák genomjában, melyeket spliceoszómális iker-intronoknak (stwintron) nevezünk el. Az stwintronok felépítésüket tekintve olyan összetett struktúrák, ahol egy belső intron megszakítja a külső intron valamely esszenciális splicing elemét (5'-donor [D], 3'-akceptor [A], lariat elágazási pont szekvencia [L]). Az stwintronok az első példái annak a jelenségnek, hogy egyes sejtmagi gének transzkriptumainak intronjai egymást követő lépések során vágódnak ki. A fungális stwintronok rendkívül jó modellrendszereknek bizonyulnak; segítségükkel tanulmányozhatjuk az intronok evolúcióját, kivágódási mechanizmusait és lehetséges funkcióikat.

A protein diverzitás növelésének egyik legismertebb módja az alternatív splicinghoz kapcsolódó különböző mechanizmusok. Jelen kutatásaink során a spliceoszómális iker-intronok és az alternatív splicing kapcsolatát vizsgáltuk; intron retenció, illetve exon skipping jelenségén keresztül.

Egy donor szekvenciában megszakított, [D5,6] típusú stwintron vizsgálata során azt figyeltük meg, hogy a struktúra szerepet játszhat „exonátugrás” lejátszódásában. Egyes gombafajok (pl.: *Aspergillus niger*) ortológ génjének transzkripciója során kimutattuk, hogy a spliceoszóma az iker-intron mögött elhelyezkedő exonikus régiót is eltávolítja az stwintronnal együtt, egy alternatív 3'-akceptor helyet felismerve. Az alternatív splicing következtében két különböző protein izomer keletkezhet.

Aspergillus nidulans fonalas gombában egy lariat elágazási pont szekvenciában megszakított [L4,5] stwintront sikerült kimutatnunk, amely a rokon fajok genomjában nincs jelen, az ortológ gének egy normál intronnal rendelkeznek azonos pozícióban. A szekvencia további érdekessége, hogy amennyiben a spliceoszóma kivágja a külső intront, azzal együtt a start kodon (AUG) is eltávolításra kerül az mRNS átíratból. Intron retenció lejátszódása szükséges ahhoz, hogy funkcióképes fehérje termék képződhessen. Ezzel az *A. nidulans* egy olyan poszttranszkripcionális regulációs módot fejlesztett ki, amely az stwintron hiányában más fajokban nincs jelen.

A kutatás a GINOP-2.3.2-15-2016-00008 számú projekt keretében, az Európai Unió támogatásával, az Európai Regionális Fejlesztési Alap társfinanszírozásával valósult meg, valamint az EFOP-3.6.1-16-2016-00022 számú projekt keretében az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával. Az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-19-3, illetve ÚNKP-19-4 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának szakmai támogatásával készült.

A glicerín-3-foszfát dehidrogenáz (*gfdB*) gén szerepe az *Aspergillus nidulans* és *Aspergillus glaucus* oxidatív stresszválaszában

Király Anita^{1,3}, Hámori Csaba², Gyémánt Gyöngyi², E. Kövér Katalin², Pócsi István¹, Leiter Éva¹

¹Debreceni Egyetem, Természettudományi és Technológiai Kar, Molekuláris Biotechnológiai és Mikrobiológiai Tanszék

²Debreceni Egyetem, Természettudományi és Technológiai Kar, Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék

³Debreceni Egyetem, Juhász-Nagy Pál Doktori Iskola

A glicerín-3-foszfát dehidrogenáz felelős a dihidroxi-aceton-foszfát glicerín-3-foszfáttá történő átalakításáért, amely ezt követően alakul glicerinné. *Aspergillus nidulans*ban két gén, a *gfdA* és a *gfdB* kódol glicerín-3-foszfát dehidrogenázt. Kutatásunk egyik célja a $\Delta gfdB$ géndeléciós törzs elkészítése és jellemzése volt. A $\Delta gfdB$ mutánszt a Double-Joint PCR technikával állítottuk elő. A $\Delta gfdB$ törzs növekedése elmaradt a kontroll törzséhez képest minimál táptalajon 37 °C-on, 5 napig inkubálva a tenyészeteket. A mutáns érzékenyebb volt oxidatív stresszre a kontroll törzshöz képest, diamid, *tert*-butil hidroperoxid (*t*BOOH) és hidrogén-peroxid jelenlétében. Összehasonlítva a vizsgált törzsek sterigmatocisztin termelését azt tapasztaltuk, hogy a *gfdB* gén deléciója jelentősen növelte a mikotoxin termelést. Emellett szignifikáns különbségeket tapasztaltunk a törzsek reaktív oxigéngyök-termelése között, ami a mutáns törzsben nagyobb volt a vad típushoz képest 0.4 mM *t*BOOH jelenlétében és anélkül is. A fokozott oxidatív gyök termelés hatással volt a mutáns antioxidáns védelmi rendszerére is, így a $\Delta gfdB$ mutánsban a glutation reduktáz (GR) és szuperoxid dizmutáz (SOD) aktivitás nagyobb, míg a kataláz és a glutation peroxidáz (GPx) aktivitás kisebb volt a kontroll törzsben megfigyelnél. A specifikus GR, kataláz és GPx aktivitás csökkent a mutáns törzsben *t*BOOH kezelés hatására is. A sejtek életképességét MTT-teszt segítségével vizsgáltuk. A deléciós mutáns életképessége lényegesen csökkent a kontroll törzshöz képest mind *t*BOOH jelenlétében mind hiányában. A sejtek apoptózist JC-1 fluoreszcens festékkel mértük és korai apoptózist tapasztaltunk a $\Delta gfdB$ törzsben *t*BOOH jelenlétében és nélküle is. Kutatásunkba bevontunk egy ozmotoleráns fajt, az *Aspergillus glaucus* is, mivel ebben a fajban hiányzik a *gfdB* gén. Az *A. glaucus*ba bevittük az *A. nidulans gfdB* gént *Agrobacterium tumefaciens* által indukált transzformációval és ezt követően jellemeztük az *A. glaucus* stresszérzékenységének a változását. A *gfdB* génnel komplementált törzsek növekedése szignifikánsan nagyobb volt a vad típushoz képest 2 M szorbitot tartalmazó táptalajon olyan oxidatív stresszt okozó ágensek jelenlétében, mint a *t*BOOH, a H₂O₂ és az MSB, továbbá a sejtfa-integritás stresszt okozó Kongó vörös és nehézfém stresszt előidéző CdCl₂ mellett 10 napos inkubációt követően, 25 °C-on. Ugyanakkor a *gfdB* gén bevitele nem befolyásolta az *A. glaucus* ozmofilitását. Ugyanezen stresszorok jelenlétében, minimál táptalajon megfigyeltük az *A. nidulans* $\Delta gfdB$ géndeléciós törzs növekedését 25 °C-on és azt tapasztaltuk, hogy a mutáns stressztoleranciája ezen a hőmérsékleten is kisebb volt, mint a vad típusú törzsé. Ezek alapján megállapítható, hogy a *gfdB* génnek nem az ozmotikus stressz, hanem az oxidatív stressz elleni védelemben van szerepe. Ugyanakkor az *A. glaucus* jól ismert ozmofilitása a *gfdB* gén evolúciós hiányával önmagában nem magyarázható.

A prezentáció elkészítését az EFOP-3.6.1-16-2016-00022 számú, "Debrecen Venture Catapult Program" című projekt támogatta. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg.

Fókuszban a Climate-Smart mezőgazdaság és a körforgásos gazdálkodás: a zöld biofinomítás újabb debreceni eredményei Lucerna (*Medicago sativa* L.) példáján

Kovács Zoltán¹; Kaszás László¹; Koroknai Judit¹; Alshaal Tarek^{1,2}; Elhawat Nevien^{1,3}; El-Ramady Hassan^{1,2}; Domokos-Szabolcsy Éva¹; Fári Miklós¹

¹*Mezőgazdasági Botanikai, Növényélettani és Biotechnológiai Tanszék, Debreceni Egyetem MÉK (Debrecen)*

²*Soil and Water Department, Faculty of Agriculture, Kafrelsheikh University, Kafr El-Sheikh, Egyiptom*

³*Department of Biological and Environmental Sciences, Faculty of Home Economic, Al-Azhar University, Egyiptom*

A sokak által idézett Lipper et al.-féle FAO tanulmány (2010) jelezte, hogy 2050-re a világ "Climate-Smart" mezőgazdaságának 70% -kal kell növelnie a termelékenységet, oly módon, hogy a növekvő népesség körében a húsfogyasztás aránya is növekedni fog. A NATURE CLIMATE CHANGE c. folyóirat első száma (2011) ezért elemző közleményt adott közre a témáról. Az NCC-közlése a fejlődés kulcsát a következőben látja: 1.) meg kell találni a mezőgazdaság intenzitás-fokozásának a jelenleginél sokkal fenntarthatóbb útját; 2.) a tudománynak előre kell ismernie azt, hogy a klímaváltozás miképpen fog hatni a globális mezőgazdaságra. A klímaváltozás a Kárpát-medencét és Észak-Afrikát, Egyiptomot az átlagosnál nagyobb mértékben fogja érinteni. Térségeinkben a biotechnológia tekinthető a Climate-Smart mezőgazdaság tudományos megalapozójának. Azt a tudást hordozza, amelyre a ma sokat emlegetett „precíziós technológia” és „körforgásos gazdálkodási rendszer” épülni fog. Érvényes ez a kihívás a fehérjegyazdálkodás egészére, úgy Magyarországon, mint Egyiptomban. A klíma-sérülékeny szójára alapuló fehérjegyazdálkodásban a zöld biomassza eredetű fehérjék növekvő előnyben történő részesítése várható, úgy hazánkban, mind Egyiptomban. Úgy tűnik, hogy az ágazatban világszerte leginkább - az elfelejtett magyar Ereky Károly által száz éve megálmodott, - ún. „Zöld biofinomítók” (Green Biorefinery”) a Climate-Smart mezőgazdaság életképes vízióját képviselik. E szemlélet mentén haladva - hazai viszonylatban a lucerna a legperspektivikusabb növényfaj, az ökológiai szempontokat is szem előtt tartva. A FIK és a Proteomill Projekt keretében végzett munkáinkban lucerna zöld biomasszából nedves frakcionálással és további biotechnológiai módszerekkel 15-50 m/m% nyersfehérje-tartalmú új levélfehérje-koncentrátumokat (LPC), illetve takarmány és egyéb ipari alapanyagokat sikerül(t) kifejleszteni. Az egyik új eljárás szellemi tulajdonjog-védelme folyamatban van. A termék előállítás mellett a feldolgozott fő-, és melléktermékek minőségét és biológiai értékét is részletesen vizsgáljuk. Az új eljárással előállított levélfehérje-koncentrátumok értékes esszenciális aminosavakat tartalmaznak. Emellett különböző telítetlen zsírsavak is kimutathatók belőle. Riboflavin, valamint flavonoidok és nem flavonoid típusú polifenolok, szaponinok szintén kimutathatók voltak UHPLC-ESI-MS technikával. Az előadás ezekből a mérési eredményekből nyújt részletes áttekintést.

Kutatási támogatás: EFOP-3.6.2-16-2017-00001 sz., „Komplex vidékgazdasági és fenntarthatósági fejlesztések kutatása, szolgáltatási hálózatának kidolgozása a Kárpát-medencében”; 20428-3/2018/ FEKUTSTRAT „Felsőoktatási intézményi kiválósági” Biotechnológia tématerület szakmai támogatásával készült”.

A cianid-rezisztens alternatív oxidáz fungális fiziológiában és metabolit termelésben betöltött szerepe

Molnár Ákos Péter, Pongó Zsófia, Mizsák Anita, Kántor Andor Attila, Szegvári Dóra, Németh Zoltán, Fekete Erzsébet, Karaffa Levente

Debreceni Egyetem, Természettudományi és Technológiai Kar, Biomérnöki Tanszék, 4032 Debrecen, Egyetem tér 1.

Az aerob légzésnél a végső elektronakceptor a légköri oxigén. A folyamat lejátszódásáért eukariótákban a mitokondrium belső membránjában található légzési lánc a felelős. Az elektrontranszport lánc működésekor protongradiens keletkezik, ami az ATP szintézis hajtóereje. Az ATP, mint energiatároló komponens, nélkülözhetetlen az élőlények anyagcsere folyamataiban és szabályozásában.

Egyes gombák eltérő respirációs útvonallal is rendelkezhetnek. Az alternatív oxidáz (AOX) az alternatív légzési útvonal terminális oxidáza, mely az elektronokat az ubiquinonról a molekuláris oxigénre közvetíti és vízzé redukálja azokat. Működése közben nem hoz létre protongradienst, így nem keletkezik ATP sem, az energia hő formájában távozik a rendszerből. Az AOX cianidra érzéketlen, szalicil-hidroxámsavakra viszont érzékeny. A cianid-rezisztens alternatív légzést növényekben, számos gombákban és néhány alacsonyabb rendű állatfajban is kimutatták. Kutatásaink során a cianid-rezisztens alternatív oxidáz anyagcserében és metabolit termelésben betöltött funkcióját vizsgáltuk *Aspergillus*-, *Botrytis*- és *Trichoderma* gombafajokban. Eredményeinkből az a következtetés vonható le, hogy az AOX működése hozzájárul a sterigmatocisztin mikotoxin és az itakonsav szintéziséhez *Aspergillus nidulans* illetve *Aspergillus terreus* gombákban, valamint feltételezhetően szerepe van a *Botrytis cinerea* növénypatogén egyes stresszválaszaiban is. *Trichoderma reesei* tenyészetekben a szénforrás kimerülése után, a celluláz enzimet termelő stacioner fázisban a légzési ráta nagyobb hányadát tette ki az alternatív légzés, mint az exponenciális fázisban. Összességében elmondható, hogy az alternatív légzés aktivitása pozitívan korrelál a fungális metabolitok hozamával.

A kutatás a GINOP-2.3.2-15-2016-00008 számú projekt keretében, az Európai Unió támogatásával, az Európai Regionális Fejlesztési Alap társfinanszírozásával valósult meg, valamint az EFOP-3.6.1-16-2016-00022 számú projekt keretében az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával. Az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-19-4 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának szakmai támogatásával készült.

A D-galaktóz és az L-arabinóz lebontás kölcsönhatásainak vizsgálata *Aspergillus nidulans* gombában

Németh Zoltán¹, Kulcsár László¹, Michel Flipphi¹, Maria Victoria Aguilar-Pontes², Ronald P. de Vries², Karaffa Levente¹, Fekete Erzsébet¹

¹Biomérnöki Tanszék, Természettudományi és Technológiai Kar, Debreceni Egyetem, 4032, Debrecen, Egyetem tér 1.

²Fungal Physiology, Westerdijk Fungal Biodiversity Institute & Fungal Molecular Physiology, Utrecht University, Uppsalalaan 8, 3584 CT Utrecht, The Netherlands.

Az *Aspergillus* nemzetségbe tartozó fonalas tömlősgombák jellemzően szaprofita vagy növénypatogén életmódot folytatnak, ezért változatos enzimmérszlet alakult ki bennük a növényi sejtfalat alkotó poliszacharidok lebontására. Ezen poliszacharidok egyik alapvető típusa a hemicellulóz, mely egyebek mellett nagy mennyiségű L-arabinóz és D-galaktóz (pentóz illetve hexóz) egységeket tartalmaz. Az L-arabinóz hasznosítása a pentóz lebontási útvonalon (PCP) történik, mely egymást követő oxidációs és redukciós lépésekkel kezdődik, majd egy irreverzibilis foszforilezést követően a D-xilulóz-5-foszfát intermediérral lép be a pentóz foszfát útvonalba. A D-galaktóz lebontás *A. nidulans*-ban a Leloir-, illetve az oxido-reduktív útvonalon (ORP) is történhet; mindkét esetben glikolitikus intermediérek jönnek létre. A Leloir útvonal első három enzime kizárólag a D-galaktóz lebontásában vesz részt, a PCP és ORP viszont részben átfed egymással.

Az *A. nidulans* az L-arabinózt és a D-galaktózt párhuzamosan is képes hasznosítani. Feltételezésünk szerint e két cukor az ORP, a PCP és a Leloir útvonalak enzimeit kódoló géneket egyaránt képes indukálni, függetlenül attól, hogy lebontásuk ténylegesen melyik útvonalon történik.

Eredményeink szerint a funkcionálisan a Leloir útvonal részének számító D-galaktóz mutarotáz enzimet kódoló *galM*B gén ugyanolyan mértékben indukálódik L-arabinózon, mint D-galaktózon, a Leloir útvonalra specifikus galaktokinázt kódoló *galE* gén pedig hiper indukálódik L-arabinóz hatására. A *galM*B és *galE* deléciója azonban nem okoz növekedési zavart L-arabinóz szénforráson, vagyis hasznosításában ténylegesen nem vesznek részt. A fentiek tükörképeként a PCP-re specifikus xilulokinázt kódoló *xkiA* gén ugyan kifejeződik D-galaktózon, viszont deléciója nem eredményez rajta fenotípust. Ezzel szemben az *araA*1 törzs - mely az ORP és a PCP részét is képező L-arabitol dehidrogenáz enzimet kódoló génben hordoz mutációt - nőni képes mindkét szénforráson. Eredményeink szerint tehát a D-galaktóz és az L-arabinóz kölcsönösen indukálni képes egymás lebontási útvonalait *A. nidulans*-ban.

A kutatás a GINOP-2.3.2-15-2016-00008 számú projekt keretében, az Európai Unió támogatásával, az Európai Regionális Fejlesztési Alap társfinanszírozásával valósult meg, valamint az EFOP-3.6.1-16-2016-00022 számú projekt keretében az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával. Az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-19-4 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának szakmai támogatásával készült.

A bZIP típusú transzkripciós faktort kódoló *FvatfA* gén szerepe a *Fusarium verticillioides* szekunder metabolit-termelésében és virulenciájában

Szabó Zsuzsa^{1,6}, Pákozdi Klaudia^{1,7}, Murvai Katalin¹, Pusztahelyi Tünde², Kecskeméti Ádám³, Gáspár Attila³, Hornok László⁴, Ádám L. Attila⁵, Leiter Éva¹, Emri Tamás¹, Pócsi István¹

¹Debreceni Egyetem, Természettudományi és Technológiai Kar, Molekuláris Biotechnológiai és Mikrobiológiai Tanszék, 4032 Debrecen, Egyetem tér 1.

²Debreceni Egyetem, Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi- és Környezetgazdálkodási Kar, Agrárműszerközpont, 4032 Debrecen, Böszörményi út 138.

³Debreceni Egyetem, Természettudományi és Technológiai Kar, Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék, 4032 Debrecen, Egyetem tér 1.

⁴Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar, 2103 Gödöllő, Páter Károly utca 1.

⁵Agrártudományi Központ, Növényvédelmi Intézet, 1022 Budapest, Herman Ottó út 15.

⁶Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar, Biológiai Tudományi Doktori Iskola, 2103 Gödöllő, Páter Károly utca 1.

⁷Debreceni Egyetem, Táplálkozás- és Élelmiszertudományi Doktori Iskola, 4032 Debrecen, Egyetem tér 1.

A változó intra- és extracelluláris körülményekhez való alkalmazkodás minden élő szervezet számára a túlélés feltétele. A sejtek homeosztázisának fenntartásában számos gén közreműködik, amely gének regulációjában – többek között – a bZIP típusú transzkripciós faktorok vesznek részt. Korábbi kísérletekből tudjuk, hogy a *Schizosaccharomyces pombe* Atf1 bZIP típusú transzkripciós faktora szabályozza a szexuális szaporodásban, valamint az ozmotikus és oxidatív stresszválaszban szerepet játszó gének expresszióját. *Fusarium graminearum*ban az *Fgatf1* gén deléciója fokozott ozmotikus és gyengébb oxidatív stressztoleranciát okozott, valamint csökkentette a mutáns által termelt dezoxinivalenol mikotoxin termelését.

Munkánk célja az *atfA* gén által szabályozott folyamatok tanulmányozása volt a kukoricát fertőző *F. verticillioides*ben. Az *FvatfA* gén deléciója megnövekedett érzékenységet okozott menadionra, *tert*-butil-hidroperoxidra, hidrogén-peroxidra és kongóvörösre Czapek-Dox táptalajon. A deléciós törzs fumonizin- és karotenoid-termelése csökkent a vad típusú törzshöz képest. Ugyanakkor az antifungális és antiprotozoa hatású poliketid pigment, a bikaverin termelése szignifikánsan nőtt a $\Delta FvatfA$ mutánsban. Ezeket az eredményeket a fumonizin termelést irányító *fum1* és *fum8*, illetve a karotenoid szintézisben kulcsszerepet játszó *carRA*, *carB*, *carT* gének, továbbá a bikaverin termeléséért felelős *bik1* gén transzkripciós változásai is alátámasztják. Paradicsombogyón elvégzett kolonizációs tesztek eredményei alapján elmondható, hogy az *FvatfA* gén fontos szerepet játszik a *F. verticillioides* inváziós növekedésében. Ivaros pároztatási kísérletek pedig igazolták, hogy a gén deléciója női sterilitást okoz.

Az előadás elkészítését az EFOP-3.6.1-16-2016-00022 számú, "Debrecen Venture Catapult Program" című projekt támogatta. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával, illetve a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal K119494 számú pályázatának támogatásával valósult meg.

Humán angiotenzin konvertáló enzim 2 (ACE2)-specifikus monoklonális ellenanyagok előállítása és funkcionális tesztelése

Tóth Márta¹, Gyöngyösi Adrienn¹, Horváth Dorottya¹, Mányiné Siket Ivetta², Bánhegyi Viktor², Tóth Attila^{2*}, Bácsi Attila^{1*}

¹Immunológiai Intézet, Általános Orvostudományi Kar, Debreceni Egyetem

²Klinikai Fiziológiai Tanszék, Kardiológiai Intézet; Általános Orvostudományi Kar, Debreceni Egyetem

*társ-vezetőkutatók

Tudományos háttér: Korábbi kutatási eredményeink szerint az angiotenzin konvertáló enzim 2 (ACE2) a kardiovaszkuláris betegségek biomarkerének tekinthető, a vérben mérhető aktivitása ugyanis szignifikánsan megemelkedik hipertóniában és szisztolés szívelégtelenségben. Mi több, az ACE2 aktivitása összefüggést mutat a betegség állapotával: javulás esetén a keringő ACE2 aktivitás csökken. A keringő ACE2 mennyiségének meghatározása ezért alkalmas lehet ezen kardiovaszkuláris betegségek helyes diagnózisának megerősítése mellett a kezelés hatékonyságának monitorozására is. Ugyanakkor az ACE2 egyes kardiovaszkuláris betegségek pathomechanizmusában is fontos szerepet játszhat. Kísérleti modellekben az ACE2 hasítási terméke az angiotenzin (1-7) gátolja az angiotenzin II által stimulált remodellinget és javítja a posztinfarktusos szív funkcióit. A rekombináns human ACE2 (GSK2586881) pedig biztonságosan felhasználhatónak bizonyult a klinikumban is az akut respirációs distressz szindróma kezelésére. Ezek a megfigyelések arra utalnak, hogy a keringő ACE2 aktivitás növelése klinikailag kívánatos lehet.

Célkitűzések: A projekt célkitűzése az ACE2 mennyiségének mérésére alkalmas diagnosztikus módszer kidolgozásához egér monoklonális ellenanyagok előállítása, valamint az ACE2 aktivitást fokozó alloszterikus regulátor hatású antitest klón/klónok azonosítása.

Módszerek: A monoklonális ellenanyagok előállításához 12 hetes nőstény Balb/c egereket immunizáltunk rekombináns humán ACE2 (Novoprotein Scientific, USA) és inkomplett Freund-adjuváns elegyével. Az immunizált egerek lépsejtjeit Sp2 mieloma sejtekkel fuzionáltattuk, majd HAT médiumban ellenanyag-termelő hibridómákat szelektáltunk ki. Az ACE2 specifikus antitesteket termelő klónokat ELISA módszerrel azonosítottuk. Az ellenanyagok affinitását egy saját fejlesztésű dot blot módszerrel is meghatároztuk. Az ACE2 aktivitás meghatározása egy speciális fluoreszcens szubsztrát (*7-metoxikumarin-4-il*)*acetyl-Ala-Pro-Lys(2,4-dinitrofenil)-OH*, EZ Biolab, Carmel, USA) felhasználásával, a fluoreszcens jelintenzitás változásának mérése alapján történt.

Eredmények: Kísérleteink során 22 db monoklonális ellenanyag klónt sikerült előállítanunk, amelyek felismerik az ACE2 fehérjét. Ezek közül - a dot blot vizsgálat eredményei alapján - 15 db nagy affinitással kötődik az enzimhez. Az elvégzett Western blot kísérletek szerint egy klón csak a natív konformációjú (nem denaturált) fehérjét ismeri fel, míg 14 klón a natív térszerkezetre nem szenzitív. Egy klón gyenge ELISA módszerrel meghatározott kötőképessége ellenére erős keresztreakciót adott a dot blot technikával. Az antitestekkel ACE2 mennyiség meghatározására alkalmas ELISA módszer fejlesztését is megkezdtük, továbbá immunhisztokémiai vizsgálatokat is végeztünk, melyek értékelése folyamatban van.

Szacharóz tartalmú poliuretán scaffoldok előállítása és karakterizálása

Vadkerti Bence¹, Nagy Lajos¹, Nagy Miklós¹, Daróczi Lajos², Deák György¹, Zsuga Miklós¹, Kéki Sándor^{1*}

¹4032 Debrecen, Egyetem tér 1., Debreceni Egyetem, Természettudományi és Technológiai Kar, Alkalmazott Kémiai Tanszék

²4026 Debrecen, Bem tér 18/b, Debreceni Egyetem, Természettudományi és Technológiai Kar, Szilárdtest Fizikai Tanszék

Összefoglaló: Kutatásunk biológiai, orvosbiológiai és gyógyszerészeti felhasználásra alkalmas poliuretánok előállítására irányult, amely során az előállított termékek karakterizálását is elvégeztük. Ezen célok elérése során csakis olyan reaktánsokkal és oldószerekkel dolgoztunk, melyek a 8. Európai Gyógyszerkönyv elvárásainak megfelelnek. A szintézis végrehajtásához egy újfajta stratégia került bevezetésre és alkalmazásra. Az **SPUR** mintákat poly(ϵ -kaprolakton)-diol, 1,6-hexametilén diizocianát és szacharóz felhasználásával készítettük el. A cukor komponens a láncnövelő és térhálósítószer szerepét szolgálta, így a termékeink szacharóz tartalmú poliuretánok lettek, melyek a hozzáadott cukor mennyiségétől különböztek egymástól. A prepolimereket és a szintézis termékeit MALDI-TOF MS, valamint IR spektroszkópia segítségével vizsgáltuk. A vizsgálatok azt mutatták, hogy a szacharóz nyolc hidroxil csoportjainak reaktivitása különböző, és a minta 60 °C-on történő kezelés után szabad izocianát csoportok már nem voltak megfigyelhetők. Továbbá duzzadási vizsgálatokat végeztünk el különböző polaritású oldószerekben, eredményként pedig azt kaptuk, hogy a duzzadási fok a dimetil-szulfoxid esetében a legnagyobb. Víz és hexán esetében a duzzadás foka kismértékű volt. A géltartalom minden minta esetén 90 % körül volt, mely azt jelzi, hogy a térhálósodás majdnem teljesen végbement. A duzzadás kinetikáját megvizsgáltuk, majd pedig sikeresen modelleztük. A térhálósűrűségeket a duzzadási kísérletek adataiból a Flory-Rehner egyenlet segítségével határoztuk meg, és nem várt módon azt az eredményt kaptuk, hogy a térhálósűrűség csökkent a növekvő cukortartalommal. A **SPUR** minták üvegesedési hőmérsékleteit (T_g) és az olvadáspontjaikat (T_m) DSC és DMA vizsgálattal határoztuk meg, melyek értékei -57 °C és 27 °C körül adódtak. A mechanikai tesztek azt mutatták, hogy a minták nagy szakadási nyúlással rendelkeznek. A kapott minták tulajdonságait figyelembe véve az egyik lehetséges alkalmazásként a sebészetben potenciálisan felhasználható, támasztó anyagot (scaffold) állítottunk elő. A biológiailag lebomló scaffold megfelelő beépüléséhez szükséges nyitott cellás habszerkezetet sókioldásos (NaCl) módszerrel készítettük el.

Köszönetnyilvánítás: Köszönjük a következő pályázatoknak a munka során nyújtott anyagi segítséget: Debreceni Egyetem Felsőoktatási Kiválósági Program Biotechnológia tématerületének pályázata, valamint NKFI-FK-128783 és a GINOP-2.3.3-15-2016-00021, amely az Európai Unió támogatásával és az Európai Regionális Fejlesztési Alap társfinanszírozásával valósult meg.

Poszterek összefoglalói

(az első szerző nevének betűrendjében)

A spliceoszómális iker-intronok (stwintron) szerepe az alternatív splicing két típusában

Ág Norbert, Kavalecz Napsugár, Péntes Fruzsina, Karaffa Levente, Claudio Scazzocchio*, Michel Flippi, Fekete Erzsébet

Biomérnöki Tanszék, Debreceni Egyetem, Magyarország

**Department of Microbiology, Imperial College London, UK*

A sejtmag génjeinek elsődleges átiratában jellemzően a kódoló „exonok” a nem kódoló „intronokkal” váltakoznak. Utóbbiak pontos kivágását az U2 típusú spliceoszóma (kis magi RNS és különböző fehérjék együttese) végzi, elősegítve a hibátlan fehérjék keletkezését. Az intron splicing lehetőséget ad a transzkripció utáni szabályozásra is.

A spliceoszómális iker-intronok (spliceosomal twin intron, stwintron) olyan egymásba illeszkedő RNS szekvenciák, melyekben a belső intron a külső intront a kivágódásához szükséges kritikus szakaszok (Donor, Akceptor, Lariat) valamelyikénél szakítja meg. A külső intron kivágódása ezért csak két, egymást követő kivágási reakcióval valósulhat meg; az első reakció a spliceoszóma működéséhez szükséges kritikus szakaszt állítja helyre.

Mi lehet az stwintron struktúra funkciója? Eredetileg az intronkivágódás (splicing) jelenségét a fehérjék sokféleségének növelésére szolgáló eszközként írták le, bár működése sokszor hibás RNS-t eredményez; ezeket a sejt azonnal lebontja. Kutatásaink során – melyhez nyilvános DNS-adatbázisokat használtunk fel – olyan stwintronokat találtunk egyes *Pezizomycotina* altörzshez tartozó gombafajok genomjaiban, melyek kapcsolatba hozhatók az exon kihagyás („exon skipping”), illetve az intron visszatartás („intron retention”) jelenségeivel. Bemutatóm során ezeket a példákat fogom ábrákkal szemléltetni.

A kutatás a GINOP-2.3.2-15-2016-00008 számú projekt keretében, az Európai Unió támogatásával, az Európai Regionális Fejlesztési Alap társfinanszírozásával valósult meg, valamint az EFOP-3.6.1-16-2016-00022 számú projekt keretében az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával. Az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-19-3 ill. ÚNKP-19-4 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának szakmai támogatásával készült.

A növényi savó (barnalé) melléktermék gyakorlati hasznosítási lehetőségei

Barna Döme, O. Tóth Ibolya, Fári Miklós Gábor és Bákonyi Nóra

*Debreceni Egyetem, Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar,
Mezőgazdasági Növénytani, Növényélettani és Biotechnológiai Tanszék*

A „Fókuszban a Climate-Smart mezőgazdaság és a körforgásos gazdálkodás: a zöld biofinomítás újabb debreceni eredményei Lucerna (*Medicago sativa* L.) példáján” c., tanszékünkön futó kutatáshoz kapcsolódva szeretnénk felhívni a figyelmet a világ népességének nagymértékű gyarapodására és az ehhez társuló egyre jelentősebb fehérjehiányra. Lévén, hogy a fehérjeipar egyoldalú, az egyéb fehérjében gazdag növényekre épülő, zöld biomassza alapú fehérjeextrakciós technikák megoldást adhatnak a fenti problémákra. A 2001-ben, a Tedej Zrt. vezetésével induló, napjaikban a Proteomill projekt keretében folytatódó lucerna nedves préselésen alapuló innovatív, oltalom alatt álló fehérjeextrakciós eljárás értékes levélfehérje koncentrátumok készítését teszi lehetővé. Az eljárás során a fehérjék koagulálása és elkülönítése után melléktermékként növényi savó ún. barnalé jön létre, igen nagy mennyiségben. A melléktermékként keletkező növényi savó minták kezelésére, tárolására, illetve felhasználására vonatkozóan eddig igen kis számban készült tanulmány, kutatás.

Kutatómunkánk során különböző fajok (lucerna, szója) növényi savó mintáit vizsgáltuk, annak érdekében, hogy a különböző tulajdonságú növényi savó melléktermékek kezelésre, illetve gyakorlati felhasználására javaslatot tegyünk. A vizsgálat alapját képező növényi savó minták a DE MÉK Bemutatókertben található kisparcellás kísérletekből származnak. A minták előállításához a vegetációs periódus során több alkalommal vettünk mintát. Vizsgáltuk a különböző fajták és mintavételi időpontok lehetséges hatását a minták néhány mennyiségi és minőségi (pl.: makro- és mikroelemek mennyisége, antioxidáns kapacitás stb.) paraméterére. Emellett vizsgáljuk (izolálást, illetve molekuláris azonosítást követően) a mintákban természetesen található tejsavtermelő baktérium törzsek hatását a minták eltarthatóságára. A specifikus, szelektált törzsek kulcsfontosságúak a keletkező barnalé szobahőn történő kezelésében, a minőségi változások elkerülésében.

Kutatási eredményeink alapján megállapítottuk, hogy a nagy mennyiségben keletkező barnalé specifikus natív baktérium törzsek segítségével szobahőmérsékleten is biztonságosan tárolható. Továbbá, megfelelő koncentrációban alkalmazva alkalmas lehet mikrobiológiai táptalaj-összetevőként, a növénytáplálásban tápoldat kiegészítőként, takarmány- és táplálékkiegészítőként, illetve funkcionális élelmiszerek készítésére is.

Kutatási támogatás: EFOP-3.6.2-16-2017-00001 sz., „Komplex vidékgazdasági és fenntarthatósági fejlesztések kutatása, szolgáltatási hálózatának kidolgozása a Kárpát-medencében”; 20428-3/2018/ FEKUTSTRAT „Felsőoktatási intézményi kiválósági” Biotechnológia tématerület szakmai támogatásával készült”, valamint az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-19-3. kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának

szakmai támogatásával készült



***Metschnikowia fructicola* mutáns törzsek pulcherriminsav termelő képességének spektrofotometriás meghatározása**

Dályai Livia, Csoma Hajnalka, Miklós Ida

Debreceni Egyetem, TTK, Genetikai és Alkalmazott Mikrobiológiai Tanszék

A gyümölcsök és zöldségek, fonalas gombák által okozott pre- és posztharveszt megbetegedései okozzák a legjelentősebb károkat, azok termesztése és tárolása során. Ezen gombás megbetegedések elleni védekezés egy nagyon fontos problémává nőtte ki magát, hiszen egyre nagyobb a társadalmi nyomás a szintetikus peszticid és fungicidmentes termékek előállítására. Egyes antagonista képességgel rendelkező mikroorganizmusok biokontroll ágensként való alkalmazása egy alternatív megoldást jelenthet erre a problémára. Számos baktérium és élesztőgomba, közöttük a *Metschnikowia* genus egyes tagjai is termelnek egy piros, vízben oldhatatlan, extracelluláris pigmentet, a pulcherrimint, amely antimikrobiális hatással rendelkezik.

Ez a molekula egy nem-enzimatis reakció eredményeképpen alakul ki, kelát komplexet képezve a Fe^{3+} ionok és a pulcherrimin prekursor molekulája, a pulcherriminsav között. A vas, mint az élő szervezet számára esszenciális elem, hiányában a mikroorganizmusok életképtelenné válnak.

A pulcherriminsav kialakulásáért az úgynevezett PUL gén klaszter a felelős. A szintézis kiindulási molekulája az L-leucin, amely a PUL1 illetve PUL2 génről (amelyekre a PUL4 gén, mint regulátor hat) expresszáldott enzimek katalizálta reakcióban alakul át cyclo(leucil-leucil) intermedieren keresztül pulcherriminsavvá, ami felhalmozódik a sejtben, vagy a sejt szekretálja azt a környezetébe.

A célunk az előanyag szintéziséért felelős génekben sérült *Metschnikowia fructicola* (CBS 10809^T) mutáns törzsek előállítása, valamint az izolált mutáns törzsek által, eltérő fiziológiai feltételek mellett képződött pulcherriminsav spektrofotometriás módszeren alapuló mennyiségi meghatározása.

Sikerült a vasmeghatározás protokollját, oly módon módosítani, hogy azzal az oldatban található pulcherriminsav prekuzorral kelát komplexet nem képző vas mennyiségét spektrofotometriásan detektálni tudjuk. Ez által következtethetünk arra, hogy az adott élesztő törzs termel-e előanyagot, amely egyébként szintelen. A kapott eredmények arra utalnak, hogy az általunk végzett mutagenizálás, olyan génben vagy génekben okozott mutációt, melyek feltehetően az előanyag bioszintéziséért felelősek. Ugyanis izoláltunk a típustörzstől jobb és gyengébb pigment termelő mutánsokat. A fotometriás mérések eredményei tükrében a fehér mutáns törzs által szintetizált pulcherriminsav mennyisége feltehetőleg kevesebb. Az erősebb pigment termelő mutánsok által előállított pulcherriminsav mennyisége viszont többnek bizonyult a típus törzshöz viszonyítva. Az adatok azt is mutatják, hogy a szintetizált előanyag mennyisége függ a sejtszámtól.

A mangán ion kioldódás mechanizmusai *Aspergillus niger* citromsav fermentációk során

Fejes Balázs¹, Németh Zoltán¹, Molnár Ákos Péter¹, Fekete Erzsébet¹, Soós Áron², Kovács Béla², Karaffa Levente¹

¹Biométernöki Tanszék, Debreceni Egyetem

²Élelmiszertudományi Intézet, Debreceni Egyetem

A citromsav az egyik legjelentősebb fermentációs biotechnológiai termék. Előállítására süllyesztett technológiával, az *Aspergillus niger* fonalas gomba felhasználásával történik. A táptalajban lévő magas mangánion (Mn^{2+}) koncentráció jelentősen lecsökkenti a citromsav kihozatalát, ezért a termelés során Mn^{2+} limitált környezetet (< 3 ppb) szükséges biztosítani. Az iparban általánosan használt termelői fermentorok saválló acélból készülnek. A kiváló anyagminőség ellenére a sterilizációhoz szükséges magas hőmérséklet és a gyártás során kialakuló alacsony ($< 1,5$) kémhatás a mechanikai nyíróerőkkel együtt képes a fém felületén korróziót kialakítani, melynek következtében az acélban ötvözőelemként jelen lévő Mn^{2+} a tápközegbe kerülhet. Hipotézisünk vizsgálatára különböző előéletű és korú fermentorokban követtük nyomon a Mn^{2+} ionok koncentrációjának változását sterilizáció előtt és után, illetve leoltást követően a citromsav fermentáció során. Megállapítottuk, hogy a pH 2,0 értéken szabályozott táptalajban jelentősen visszaszorult a Mn^{2+} ionok kioldódása. Eredményeink arra is rávilágítottak, hogy sérült felületű saválló acélból a sterilizáció során jelentős mennyiségű Mn^{2+} kerülhet a fermentáléba, megakadályozva ezzel a termelői körülmények biztosítását. Tanulmányunkkal rá szeretnénk világítani a fermentációs paraméterek finomszabályozásának szükségességére, a fémfelületek épségének ellenőrzésére és szükség esetén felületkezelési eljárások alkalmazására a magas citromsav hozam érdekében.

A kutatás a GINOP-2.3.2-15-2016-00008 számú projekt keretében, az Európai Unió támogatásával, az Európai Regionális Fejlesztési Alap társfinanszírozásával valósult meg, valamint az EFOP-3.6.1-16-2016-00022 számú projekt keretében az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával. Az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-19-3 ill. ÚNKP-19-4 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának szakmai támogatásával készült.

A stressz hatása az *Aspergillus nidulans* fonalas gomba szekunder anyagcseréjére

Gila Cs. Barnabás^{1,2}, Kenyeres Zoltán¹, Antal Károly³, Pócsi István¹, Emri Tamás¹

¹Debreceni Egyetem, Molekuláris Biotechnológiai és Mikrobiológiai Tanszék, 4032 Debrecen, Egyetem tér 1.

²Debreceni Egyetem, Táplálkozás- és Élelmiszertudományi Doktori Iskola, 4032 Debrecen, Egyetem tér 1.

³Eszterházy Károly Egyetem, Állattani Tanszék, 3300 Eger, Eszterházy tér 1.

A fonalgombák stresszválaszainak transzkriptomikai módszerekkel való tanulmányozása révén átfogó képet kaphatunk a szekunder metabolit génklaszterek stressz-függő viselkedéséről. A szekunder anyagcseretermékek stressz-függő képződésének nyomon követése azonban technikai szempontból már nem ennyire egyszerű feladat. Sikertelenül adaptálnunk egy igen egyszerű eljárást nagyszámú stressz kezelt felületi tenyészet szekunder metabolit spektrumának gyors meghatározására. Ezt a módszert használtuk fel arra, hogy megvizsgáljuk, milyen változásokat okoznak a különböző stresszhatások (a menadion-nátrium-biszulfit, *tert*-butil-hidroperoxid és diamid okozta oxidatív stressz, illetve a kongóvörös által kiváltott sejtfal stressz, a NaCl indukált ozmotikus stressz és a CdCl₂ okozta nehézfém stressz) az *Aspergillus nidulans* Δ atfA mutánsának és szülői törzsének szekunder anyagcseréjére. A kontroll törzzsel összevetve a mutáns fokozottabb érzékenységet mutatott a menadionra, a *tert*-butil-hidroperoxidra, a diamidra és a NaCl-ra, viszont toleránsabb volt a kongóvörös festék okozta sejtfal stresszel szemben. Az adatok multidimenzionális skálázásából az alábbiakra következtettünk: 1) A stresszkezelt és a kezeletlen tenyészetek szekunder metabolit termelése nagyban függ az AtfA bZip típusú transzkripciós faktor jelenlététől. 2) A NaCl-dal és a kongóvörös festékkel kezelt tenyészetek szekunder metabolit spektrumai mindkét törzs esetében, illetve a menadionnal kezelt tenyészetek spektrumai a kontroll törzs esetében jelentősen eltértek a többi stressznél tapasztaltaktól. 3) A tenyészetek szekunder metabolit spektruma bizonyos esetekben korrelációt mutatott a szekunder metabolit génklaszterek transzkripciós adataival.

Köszönetnyilvánítás: A poszter elkészítését az EFOP-3.6.1-16-2016-00022 számú, "Debrecen Venture Catapult Program" című projekt támogatta. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával, illetve a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal K108989, K112181 és NN125671 számú pályázatainak anyagi támogatásával valósult meg.

Burgonya *Rm* és *Ns* gén lókuszek molekuláris genetikai markerezése

Hidvégi Norbert¹, Gulyás Andrea¹, Virányi Pálné¹, Dobránszki Judit¹

¹Debreceni Egyetem AKIT Nyíregyházi Kutatóintézet, 4400 Nyíregyháza, Westsik Vilmos utca 4-6.

A szántóföldi növények esetében a burgonya növénynek van a legtöbb kórokozója, mely az egész világon termésvesztést okoz. Ennek okán a növénynemesítés egyik legfőbb célja, hogy olyan burgonyafajtákat hozzanak létre, melyek ellenállóbbak a biotikus vagy abiotikus stresszel szemben. A vírusbetegségeket figyelembe véve, a legnagyobb fertőzést a burgonya Y vírus (Potato virus Y, PVY) és a levélsodródás vírus (Potato leafroll virus, PLRV) okozza, mivel mind a két vírusnak nagyon széles a gazdanövényköre és a terjedésüket levéltetvek segítik. Ezen fertőzések mellett nagy károkat okoz még a burgonya X (Potato virus X, PVX), burgonya A (Potato virus A, PVA) és a burgonya S (Potato virus S, PVS) vírusok is. A PVS vírus önmagában nem okoz termésvesztést, de ha más vírusokkal együtt fertőz, akkor nagyon nagy károkat képes okozni és fajtaleromláshoz vezet. A vegetatív úton szaporított burgonya utódokban is tovább öröklődik a fertőzés, amely nem jár mindig látható elváltozásokkal.

Kutatásunk célja az volt, hogy az *Rm* és *Ns* gének lókuszeihez (amelyek felelősek a PVS vírussal szembeni rezisztencia kialakulásáért) kapcsolt molekuláris genetikai markereket vizsgáljuk meg a Debreceni Egyetem AKIT Nyíregyházi Kutatóintézetében lévő burgonya hibrid vonalakon, klónokon és referencia vad fajokon, amelyek alkalmazhatóak a PVS vírus rezisztencia markerként, szelektálhatóak és így felhasználhatóak a klasszikus növénynemesítésben. Összesen 30 burgonya fajtát és klónt (10 hibridvonal, 2 szülői vonal, 7 vad faj, illetve 11 egyéb klón) vizsgáltunk meg CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences), STS (Sequence Tagged Sites), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) és ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) markerekkel.

Kutatásaink eredményeként 4 CAPS és 1 ISSR marker alkalmasnak bizonyult a vizsgált burgonyaminták PVS vírus rezisztenciájának vizsgálatára. Kapilláris elektroforézissel meghatároztuk a pontos fragmentum méreteket, melyek alapján a lehetséges a PVS vírus rezisztens fajtákat szelektálni. Ezen fajták további vizsgálatára a felszaporított lókuszek szekvenálása folyamatban van.

A *Saccharomyces cerevisiae* fertőzések diagnózisa és a faj patogenitásának vizsgálata

Imre Alexandra^{1,2}, Rác Hanna Viktória^{1,3}, Antunovics Zsuzsa⁴, Kovács Renátó^{5,6}, Rádai Zoltán^{7,8}, Pócsi István¹, Ksenija Lopandic⁹, Pfliegler Walter¹

¹DE TTK, Molekuláris Biotechnológiai és Mikrobiológiai Tanszék

²DE Laki Kálmán Doktori Iskola

³DE Táplálkozás- és Élelmiszertudományi Doktori Iskola

⁴DE TTK, Genetikai és Alkalmazott Mikrobiológiai Tanszék,

⁵DE ÁOK, Orvosi Mikrobiológiai Intézet, Debrecen

⁶DE, Gyógyszerésztudományi Kar, Debrecen

⁷DE TTK, Evolúciós Állattani és Humánbiológiai Tanszék

⁸DE Juhász-Nagy Pál Doktori Iskola

⁹Vienna University of Natural Resources and Life Sciences

A probiotikumok használata kedvezőnek tartott egészségügyi hatásai következtében, napjainkban világszerte elterjedt. A probiotikus készítmények népszerűvé válása azonban sok esetben nem párosult hatásmechanizmusuk, illetve esetleges egészségügyi kockázataik tudományos felméréssel. Egyre több tanulmány számol be olyan esetekről, melyekben a probiotikus élesztőként alkalmazott *Saccharomyces 'boulardii'* (a *S. cerevisiae* egyik altípusa) fertőző ágensként szerepel (akár szepszist okozva), így potenciális patogénként tartható számon. Gyakori alkalmazásuk miatt ezáltal jelentős egészségügyi kockázatot jelentenek főleg a súlyosan beteg, elhúzódó kórházi kezelés alatt álló, valamint csecsemőkorú páciensek esetében. Munkánk során optimalizáltunk egy az interdelta fingerprinting és a mikroszatellita tipizálásra épülő multiplex PCR módszert, mellyel egyértelműen elkülöníthetőek a *S. 'boulardii'* izolátumok az egyéb élesztő izolátumoktól. Ezen módszer lehetővé teszi a probiotikus élesztő eredetű fertőzések gyors és egyértelmű azonosítását.

Ezen felül szerettük volna azonosítani azokat az adaptációkat, amelyek lehetővé teszik a *S. 'boulardii'* számára a túlélést emlős szervezetben. Kereskedelmi forgalomban kapható és klinikai eredetű probiotikus élesztőket is vizsgáltunk, melyeket immunszuppresszált BALB/c egerekbe oltottunk, majd veséjükben visszaizoláltuk az élesztőket. Azt vizsgáltuk, hogy az egérből visszaizolált szubklónok mutatnak-e olyan fenotípus változásokat, melyek más humán patogén gombákra jellemzőek. Az eredmények azt mutatták, hogy a klinikai törzs, illetve annak egérből származó szubklónjai kevésbé tolerálták az amfotericin B, a flukonazol, és a kongóvörös által okozott sejtfal és oxidatív stresszt, mint a kereskedelmi törzsek és szubklónjaik. Ezzel szemben a LiCl és NaCl ozmotikus stresszt egyértelműen jobban tűrték. Ezen eredmények segítenek az emlős szervezetben adaptációhoz vezető gének azonosításában, mely alapja lehet egy biztonságosabb élesztő probiotikum törzs kifejlesztésének. Az élesztő probiotikumok új generációjának egyesítenie kell a faj bélrendszerre gyakorolt, bizonyított jótékony hatásait és a biztonságosságot a fertőzési kockázatok kiküszöbölése érdekében.

Transzkripciós faktort túltermelő mutánsok előállítása és jellemzése *Aspergillus nidulans*ban

Kocsis Beatrix, Tillman Barbara, Leiter Éva, Pócsi István

*Debreceni Egyetem, Természettudományi és Technológiai Kar, Biotechnológiai Intézet,
Molekuláris Biotechnológiai és Mikrobiológiai Tanszék*

Az élőlények megfelelő védekező és adaptációs rendszert építettek fel a környezetükben fellépő stresszhatásokkal szemben. Így például a fonalas gombák, melyek nagy része aerob, életfolyamataik során sok esetben vannak kitéve oxidatív stressznek. Gombákban az oxidatív stresszválasz szabályozásában kiemelt jelentőségűek a bZIP típusú transzkripciós faktorok. Az AtfA bZIP típusú transzkripciós faktor kulcsfontosságú a stressz elleni védelemben. Ezen kívül szerepet játszik a szekunder metabolit termelésben, a gombák egyedfejlődésében például *Aspergillus nidulans*ban, *Neurospora crassaban*, *Fusarium graminearumban* és akár a gombák virulenciájában is például *Aspergillus fumigatus*ban. Egy másik bZIP típusú transzkripciós faktor az AtfB kiemelkedő fontosságú a konidiosporák túlélésében *A. nidulans*ban. A két transzkripciós faktor heterodimert képezve vehet részt az *A. nidulans* stressz elleni védelmében. Ennek a hipotézisnek a megerősítésére előállítottunk túltermelő mutánsokat a következő kombinációkban: *atfAOE*, *atfBOE*, Δ *atfAatfBOE*, *atfAOE* Δ *atfB*. A géneket nitráttal indukálható promotérral fuzionáltattuk. A mutánsok oxidatív stresszválasz vizsgálata során a következő fenotípusokat tapasztaltuk: A kontroll törzshöz képest az *atfB*-t túltermelő törzs szignifikánsan jobban növekedett H₂O₂ jelenlétében, mint a kontroll. Ugyanakkor az *atfB* túltermelése a Δ *atfA* törzsben már nem tudta kompenzálni az *atfA* hiányát, így a Δ *atfAatfBOE* mutáns egyáltalán nem növekedtek H₂O₂ jelenlétében. Az *atfA* túltermelése a Δ *atfB* mutánsban fokozta a gomba H₂O₂-dal szembeni toleranciáját. A lipidperoxidációt okozó *tBOOH* érzékenységet vizsgálva azt tapasztaltuk, hogy sem az *atfA*, sem az *atfB* túltermelése nem kompenzálta a *tBOOH* hatását a deléciós mutánsokban. Ugyanakkor az *atfB* túltermelése önmagában védelmet nyújtott a *tBOOH*-val szemben, ez a hatás azonban nem bizonyult szignifikánsnak. Menadionnal (a sejtek peroxidtartalmát növeli meg) szembeni toleranciát sem az *atfA*, sem az *atfB* túltermelése nem fokozta a deléciós mutánsokban, illetve önmagában az *atfB* túltermelése hasonló menadion érzékenységet eredményezett, mint a kontrollban.

A prezentáció elkészítését az EFOP-3.6.1-16-2016-00022 számú, "Debrecen Venture Catapult Program" című projekt támogatta. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg. A projekt elkészítését az NKFIH (projektszám: K119494 és NN125671) támogatta.

Az *Aspergillus terreus* gomba itakonsav termelésének vizsgálata D-xilóz, illetve xilitol szénforrásokon

Kolláth István Sándor^{1,2}, Fekete Erzsébet², Karaffa Levente²

¹Debreceni Egyetem, Kémia Doktori Iskola

²Debreceni Egyetem, Természettudományi és Technológiai Kar, Biomérnöki Tanszék

Az itakonsavat (metilén-szukcinát) ipari léptékben az *Aspergillus terreus* fonalas gomba süllyesztett fermentációjával állítják elő. Jelenleg melaszt, illetve keményítőt alkalmaznak fermentációs szénforrásként, de az étkezési és takarmányozási célra már nem hasznosítható, mezőgazdasági- és erdészeti hulladékok potenciális alternatívaként kínálóznak. Újabb, olcsóbb alapanyagok felkutatása égetően fontos a biotechnológiai ipar számára is. A D-xilóz, a lignocellulóz biomassza egyik legjelentősebb alkotóeleme. A lignocellulóz egyéb gyakori monomerjeinek (pl. D-glükóz, D-xilóz, L-arabinóz) együttes alkalmazása során a különböző cukrok hatással lehetnek egymás transzportjára, metabolizmusára. Ennélfogva a biokémiai hátteret először külön-külön kell megvizsgálni a különböző szénhidrátok esetében.

A D-xilóz lebontás során, az első két enzimátikus lépés eltérő kofaktor igénye miatt aránytalanság léphet fel a NADPH/NADP⁺, illetve NADH/NAD⁺ steady-state értékeiben, amely főként oxigén limitáció esetén kritikus lehet. Ez a probléma elvileg elkerülhető, ha az útvonal második intermedierjét, a xilitolt alkalmazzuk szénforrásként, amely az etanol gyártás egyik jellemző mellékterméke. Tanulmányunk célja, hogy D-xilóz kontrollal szemben teszteljük a xilitolt, mint potenciális itakonsav fermentációs szénforrást. Öt különböző koncentrációban (10 g L⁻¹, 50 g L⁻¹, 110 g L⁻¹, 150 g L⁻¹, 200 g L⁻¹) párhuzamos fermentációkat végeztünk el, melyekben *A. terreus* NRRL 1960 itakonsav túltermelő törzset alkalmaztunk.

A legalacsonyabb kiindulási koncentráció gyenge moláris hozamot eredményezett mindkét szénforráson, kiváltképp a xilitol esetében (0,04 ± 0,01 és 0,24 ± 0,01). A hozamok közötti különbség azonban a koncentrációk növelésével csökkent a két szénforrás között. 100 g L⁻¹ kiindulási koncentráció fölött nincs szignifikáns különbség a D-xilóz és xilitol alapú fermentációk moláris hozamai között (minden esetben 0,5 ± 0,03). Xilitolon két napig tartó lappangó (lag) fázist észleltünk, amely független volt a kiindulási koncentrációtól. A lag fázist követően a xilitol felvételi rátája megnőtt, és megközelítette a D-xilóz átlagos felvételi rátáját. A maximális fungális biomassza értékeiben statisztikai eltérést nem észleltünk, amely arra enged következtetni, hogy xilitol szénforráson hatékonyabb a biomassza képződés, mint D-xilózon.

Összefoglalóan, ha a xilitol felvételi rátáját – főleg a fermentáció kezdeti szakaszában – fokozni tudnánk, akkor ez a könnyen elérhető poliol az *A. terreus* itakonsav fermentációk szempontjából hatékonyabb szénforrás lehetne, mint a D-xilóz.

A kutatás a GINOP-2.3.2-15-2016-00008 számú projekt keretében, az Európai Unió támogatásával, az Európai Regionális Fejlesztési Alap társfinanszírozásával valósult meg, valamint az EFOP-3.6.1-16-2016-00022 számú projekt keretében az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával. Az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-19-4 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának szakmai támogatásával készült.

A biokompatibilis poliuretán alapú polimerek térhálósítójaként alkalmazott szacharóz reaktivitásának vizsgálata fenil-izocianáttal

Kordován Marcell Árpád¹, Nagy Lajos¹, Vadkerti Bence¹, Batta Gyula², Fehér Péter Pál³, Zsuga Miklós¹, Kéki Sándor¹

¹Debreceni Egyetem, Alkalmazott Kémiai Tanszék, H-4032 Magyarország Debrecen, Egyetem tér 1.

²Debreceni Egyetem, Szerves Kémiai Tanszék, H-4032 Magyarország Debrecen, Egyetem tér 1.

³MTA Természettudományi Kutatóközpont Szerves Kémiai Intézet, H-1117 Budapest, Magyar tudósok körútja 2.

Összefoglalás: A biokompatibilis poliuretán alapú polimerek egyik elterjedt térhálósító anyaga a szacharóz, amely ezt a funkciót nyolc hidroxil csoportja révén tudja betölteni. Ugyanakkor fontos annak ismerete, hogy a térhálósításban effektíven hány darab OH csoport vesz részt, amely jobb tervezhetőséget biztosít a biokompatibilis polimer térháló sűrűségének megtervezésében. A kutatási munkánk során a szacharóz OH csoportjainak reaktivitását vizsgáltuk fenil-izocianát jelenlétében. A szacharózt nagy mólfeleslegben alkalmaztuk a reakció során az izocianáthoz képest, pszeudo-elsőrendű kinetikát megvalósítva, így a reakcióban gyakorlatilag csak monoszubsztituált szacharóz származékok képződtek (a diszubsztituált származékok mennyisége kb. 2 % volt). A kísérleteket DMSO oldószerben valósítottuk meg szobahőmérsékleten, a reakció „befagyasztását” metanollal végeztük, a képződött termékek követése pedig HPLV-UV módszerrel történt. A különböző reakcióidőhöz tartozó kromatogramokban megjelenő csúcsok relatív területei alapján meghatároztuk az abszolút és a relatív sebességi állandókat. Ezután a következő lépés az egyes sebességi állandóknak a szacharóz megfelelő OH csoportjához történő hozzárendelése volt. Ennek érdekében kétdimenziós NMR, illetve folyadékkromatográfiával kombinált tandem tömegspektrometriás méréseket végeztünk. A kétdimenziós NMR mérések igazolták, hogy a három legreaktívabb OH csoport, a primer OH csoportokhoz tartozik (a 6, a 6', valamint az 1' pozíciókban). Ezután, figyelembe véve, hogy az uretán kötés az alkohol és az izocianát addíciós reakciójával jön létre és részben függ az alkohol OH csoportjának elektronsűrűségétől, meghatároztuk a Mulliken töltéseket. Ennek segítségével és az NMR, valamint az MS/MS eredmények felhasználásával javaslatot tettünk a szacharóz OH csoportjainak relatív reaktivitási sorrendjére, amely a következőnek adódott: $k_{(OH)6}(1) > k_{(OH)6'}(0.84) > k_{(OH)1'}(0.31) > k_{(OH)3}(0.25) > k_{(OH)4}(0.23) > k_{(OH)2}(0.13) > k_{(OH)4'}(0.11) > k_{(OH)3'}(0.09)$.

Köszönetnyilvánítás

Köszönjük a Debreceni Egyetem Felsőoktatási Kiválósági Program Biotechnológia tématerület pályázata, a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (NKFI) FK-12783 pályázat és a GINOP-2.3.3-15-2016-00021, GINOP-2.3.3-15-2016-00004, GINOP-2.3.2-15-2016-00008 pályázatok által nyújtott anyagi segítséget.

A *Candida albicans* allélspecifikus génexpressziójának elemzése bioinformatikai módszerekkel

Nagy-Köteles Csaba^{1,4}, Barta Endre², Szabó Krisztina³, Jakab Ágnes¹, Emri Tamás¹, Nagy Tibor², Dombrádi Viktor³, Pócsi István¹

¹Debreceni Egyetem, Természettudományi és Technológiai Kar, Molekuláris Biotechnológiai és Mikrobiológiai Tanszék, Debrecen, Egyetem tér 1.

²Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet, Debrecen, Egyetem tér 1.

³Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Orvosi Vegytani Intézet, Debrecen, Egyetem tér 1.

⁴Debreceni Egyetem, Táplakozás- és Élelmiszertudományi Doktori Iskola, Debrecen, Egyetem tér 1.

A *Candida albicans* egy, az emberi szervezetben kommenzalistaként élő diploid, opportunistá patogén gomba. Ennek az élesztő fajnak az egyik jellemző tulajdonsága, hogy nem képes valódi szexuális reprodukcióra, és ennek következtében az evolúció során eltérések alakulhattak ki az egyes gének két független allélja között. A *Candida* genom program legújabb verziója lehetővé teszi az A és B allélszekvenciák elkülönítését. Tehát a *C. albicans* alkalmas az allélspecifikus génexpresszós tanulmányozására.

A jelen vizsgálat célja meghatározni azt, hogy különféle környezeti stressz hatására a *C. albicans* génjeinek melyik allélja fejeződik ki specifikusan. A bioinformatikai munkát megelőzték a *C. albicans*on végzett különböző stresszkísérletek, melyek genomszintű transzkripciós változásokat igazoltak. A munka során felhalmozott RNAseq adatok újraelmzése céljából első lépésként lefuttattunk egy tradicionális *TopHat/Cufflinks* pipeline illesztést. Ezen tradicionális módszerrel azonban sajnos nem sikerült allélspecifikus adatokat nyernünk. Ezért döntöttünk úgy, hogy egyedi, saját fejlesztésű pipeline-t dolgozunk ki, mely egy olyan algoritmust alkalmaz, ami allélspecifikus illesztést eredményez. Az algoritmus egyik fontos eleme az, hogy ha egy mRNS szekvencia szigorúan csak egyszer illeszkedik a referencia genomra, az az allélspecifikus kifejeződés bizonyítékának tekinthető. Így megállapítottuk, hogy a *C. albicans* kb. 6300 génje közül több mint 100 gén esetében szignifikánsan az A vagy a B allél irányába tolódik el a transzkripció. A biztató eredmények elemzése és megerősítése további bioinformatikai és laboratóriumi kísérletes munkát igényel.

A prezentáció elkészítését az EFOP-3.6.1-16-2016-00022 számú, "Debrecen Venture Catapult Program" című projekt támogatta. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg.

A felhasznált szekvencia adatsorok létrehozását az NKFIH K108989 pályázat tette lehetővé. A bioinformatikai munkát a Gödöllői NAIK Barta Endre Group végezte.

A mangán szuperoxid-dizmutáz gén szerepe az oxidatív stresszel szembeni védekezésben, valamint a légzésben és az apoptotikus folyamatokban, *Fusarium verticillioides*ben

Pákozdi Klaudia^{1,6}, Szabó Zsuzsa^{1,7}, Nagy-Köteles Csaba Alfréd^{1,6}, Gila Cs. Barnabás^{1,6}, Murvai Katalin¹, Pusztahely Tünde², Kecskeméti Ádám³, Gáspár Attila³, Hornok László⁴, Ádám L. Attila⁵, Pócsi István¹, Leiter Éva¹

¹Debreceni Egyetem, Természettudományi és Technológiai Kar, Molekuláris Biotechnológiai és Mikrobiológiai Tanszék, 4032 Debrecen, Egyetem tér 1.

²Debreceni Egyetem, Mezőgazdasági-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar, Agrárműszerközpont, 4032 Debrecen, Böszörményi út 138.

³Debreceni Egyetem, Természettudományi és Technológiai Kar, Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék, 4032 Debrecen, Egyetem tér 1.

⁴Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar, 2103 Gödöllő, Páter Károly u. 1.

⁵Agrártudományi Központ, Növényvédelmi Intézet, 1022 Budapest, Herman O. út 15.

⁶Debreceni Egyetem, Táplálkozás- és Élelmiszertudományi Doktori Iskola, 4032 Debrecen, Egyetem tér 1.

⁷Szent István Egyetem, Mezőgazdasági- és Környezettudományi Kar, Biológiai Tudományi Doktori Iskola, 2103 Gödöllő, Páter Károly u. 1.

Az aerob élőlényeknek adaptálódniuk kell a mitokondriumban képződő reaktív oxigénfajták (ROS) okozta stresszhez. A ROS által kiváltott sejtkárosodást egy antioxidáns védelmi rendszer mérsékli, amelynek fontos elemei a különböző enzim-rendszerek: a katalázok, a peroxidázok, a szuperoxid-dizmutáz és a glutation redox rendszer. A mitokondriális mangántartalmú szuperoxid-dizmutáz (MnSOD) ártalmatlanítja a szuperoxid gyököt, továbbá alapvető szerepet játszik a mitokondrium szerkezeti és funkcionális integritásának megőrzésében. A *Saccharomyces cerevisiae*en végzett korábbi kísérletekben az *MnSOD* gén deléciója növekedésgátlást okozott aerob körülmények között, s egyúttal a mitokondriális DNS károsodását is előidézte. Az *Aspergillus nidulans* Δ *MnSOD* mutánsa érzékenyen reagált menadion jelenlétére, és a *Penicillium chrysogenum* által termelt antifungális fehérje (PAF) által kiváltott apoptotikus sejthalál jelenségek is felerősödtek a mutánsban.

Munkánk célja a *Fusarium verticillioides* *FvMnSOD* génjének funkcionális jellemzése volt. Az *FvMnSOD* deléciójának következtében nőtt a mutáns törzsek érzékenysége 5 μ M menadionra Czapek-Dox táptalajon; a deléció fokozta a gomba PAF-fal szembeni érzékenységét is. A Δ *FvMnSOD* mutáns légzése intenzívebbnek bizonyult a vad típusénál. Az *FvMnSOD* hiánymutánsok szignifikánsan kevesebb fumonizin B₁ mikotoxint termeltek, mint a vad típusú szülő törzs. Ugyanakkor, ez a mutáció nem befolyásolta a gomba szexuális szaporodását (nem jelentkezett női sterilitás), és a paradicsom bogyón mért inváziós növekedésben (amely a virulencia egyik fontos mutatója) sem tapasztaltunk gyengülést.

A prezentáció elkészítését az EFOP-3.6.1-16-2016-00022 számú, "Debrecen Venture Catapult Program" című projekt támogatta. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával, illetve a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal K119494 számú pályázatának támogatásával valósult meg.

Különböző hőmérsékleten kezelt szilika aerogélek csont irányú differenciálódást elősegítő hatásának „in vitro” vizsgálata.

Tóth Ferenc¹, Szilágyi Ildikó¹, Czibulya Zsuzsanna¹, Bakó József¹, Turáni Melinda², Tóth-Győri Enikő³, Nagy Gábor², Lázár István³, Pócsi István², Hegedűs Csaba¹

¹Debreceni Egyetem, Fogorvostudományi Kar, Bioanyagtan és Fogpótlástani Tanszék

²Debreceni Egyetem, Természettudományi Kar, Molekuláris Biotechnológiai és Mikrobiológiai Tanszék

³Debreceni Egyetem, Természettudományi Kar, Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék

Napjainkban egyre inkább a figyelem középpontjába kerül a szilika alapú aerogélek bioaktív mátrixként történő használata az ortopédiai, fogorvosi és szájsebészeti csontpótlás területén egyaránt. Ezek a bioaktív anyagok, előállításuknál egyszerűen módosítható fizikai tulajdonságaik (pórusméret, szilárdság) révén hatásos eszközként szolgálhatnak a csontképződés elősegítéséhez. Fogászati alkalmazásra azonban az utólagos formázás helyett, por formában tűnik célravezetőnek. Ezen felül az általánosan használt kezelési hőmérséklet megváltoztatása elősegítheti a csontképződés indukciójában szerepet játszó anyagok kioldódását is. Jelen munkánk során célul tűztük ki a szilika alapú aerogél hőkezelési hőmérséklet és szemcseméret csont irányú differenciálódásra kifejtett hatásának *in vitro* körülmények között történő vizsgálatát.

A vizsgálathoz felhasznált aerogéleket a szintézis utolsó lépéseként 1000, 900, 800, 700 és 600 °C hőmérsékleten kezeltük, majd őrlés és méret szerinti (5-10 µm, 10-50 µm, 50-100 µm, illetve 100 µm felett) elválasztás után használtuk fel vizsgálatainkhoz. MG63 sejteket a különböző hőmérsékleten kezelt és méretű aerogélek hozzáadásával, vagy anélkül növesztettünk, majd 7 illetve 14 nap után vizsgáltuk a sejtek életképességét, az I-es típusú kollagén csontosodási marker gén expressziójában, valamint az alkalikus foszfatáz enzim aktivitásában bekövetkező változásokat.

Vizsgálatunk során megfigyeltük, hogy 7 nap után elsősorban az 1000 és 900 °C-on kezelt aerogélek hozzáadása szignifikánsan csökkentette a sejtek életképességét a kontrollhoz képest, amely a 900 °C-on hőkezelt aerogélek esetében 14 nap után is megfigyelhető, jóllehet a hatás kevésbé kifejezett. Az I-es típusú kollagén transzkripciója nagymértékű, szignifikáns csökkenést mutatott 7 nap után az 1000-700 °C-on kezelt aerogélt tartalmazó minták esetében minden szemcseméretnél, amely azonban a 700, illetve 800 °C-on hőkezelt aerogélt tartalmazó minták esetében 14 nap után jelentősen megnő. Az ALP aktivitása 1 hét után szignifikánsan lecsökkent a kisebb méretű, 600 °C-on hőkezelt aerogélt tartalmazó minták esetében, míg máshol nem mutatott változást a kontrollhoz viszonyítva. 14 nap után elsősorban a 10 µm-nél nagyobb méretű aerogéleket tartalmazó minták esetén mutatott növekedést az ALP aktivitása minden hőmérsékleten a kontrollhoz képest.

In vitro körülmények között, a csontosodási markerek vizsgálata alapján a nagyobb szemcseméret (≥10 µm), valamint a 700-800 °C-os hőkezelés a leginkább kedvező a csontképződés elősegítéséhez.