

Folyamatban levő Ph.D. munkák

1.

Témavezető: Vass Imre

Doktori Iskola: SZTE TTIK Biológia Doktori Iskola

Ph.D. hallgató: Kodru Sandeesh

Témacím: Alternatív fotoszintetikus elektrontranszport folyamatok jellemzése és a fénykárosításban játszott szerepük vizsgálata

A kutatási téma leírása: A fotoszintézis a földi élet alapvető folyamata, amelynek során a növények, algák és cianobaktériumok a Nap fényenergiáját szerves anyagokká alakítják, ami a teljes földi bioszféra alapvető energiaforrása. A fotoszintézis elsődleges folyamatai a tilakoid membránokba ágyazódott protein komplexekben játszódnak le: Az egyes és kettős fotokémiai rendszer (PSI ill. PSII), a kettő közötti elektron áramlást közvetítő citokróm b6f (cytb6f) komplex és az ATP szintáz. A fény nem csak a fotoszintézis elsődleges hajtóereje, de jelentős stressztényező is, ami csökkenti a fotoszintetikus aktivitást, elsősorban a PSII komplexben, a fénygátlásnak nevezett folyamat során. Intakt rendszerek képesek a fénykárosítás helyreállítására a PSII károsodott protein komponenseinek újraszintézise révén. A károsító és helyreállító folyamatok szétválasztására protein szintézis gátlókat szokás alkalmazni. Az egyik gyakran alkalmazott gátlószer a kloramfenikol, amiről azonban ismert, hogy a PSI komplexben elektron akceptorként is működik, és ennek során szuperoxidot termel, ami egy a környezetét károsító reaktív oxigén forma.

A munka célja a kloramfenikol által közvetített alternatív elektrontranszport folyamatok jellemzése, különös tekintettel a fénygátlás vizsgálatok eredményét torzító mellékhatásokra.

2.

Témavezetők: Kós Péter, Vass Imre

Doktori Iskola: SZTE TTIK Biológia Doktori Iskola

Ph.D. hallgató: Patyi Gábor

Témacím: Az intracelluláris szinglet oxigén érzékelése GFP fluoreszcenciával Synechocystis PCC6803 cianobaktériumban

A kutatási téma leírása: A szinglet oxigén (1O_2) nagyon fontos reaktív oxigénforma (ROS), a makromolekulák széles skáláját károsíthatja, például lipideket, karotinoidekat és fehérjéket. Kialakulása a fotoszintetikus reakciók során a kettős fotokémiai reakcióközpontban (PSII) történik. Nagy fényviszonyok között a keletkezett triplett állapotú klorofill kölcsönhatásba léphet a molekuláris oxigénnel, ami energiaátadás útján 1O_2 képződéshez vezet.

Ez a rendkívül reaktív ROS oxidatív hatása mellett részt vehet a jelátviteli mechanizmusokban és más intracelluláris reakciókban. Ez a fontosság az oka annak, hogy vizsgáljuk az 1O_2 intracelluláris mechanizmusokat. Különböző 1O_2 érzékelési módszerek léteznek,

például a hisztidin által közvetített O_2 felvétel, amely lehetővé teszi a 1O_2 keletkezés sebességének kiszámítását az O_2 fogyasztás mértékéből. Ugyanakkor továbbra is hiányoznak azok a detektálási módszerek, amelyek felhasználhatók lennének az 1O_2 generáció térbeli eloszlásának detektálására az *in vivo* cianobaktérium sejtekben.

A zöld fluoreszcens fehérje (GFP) napjainkban nagyon gyakran használt riporterfehérje a biológiai kutatásokban. Az 1O_2 károsíthatja ezt a fehérjét, ezáltal csillapítva a fluoreszcenciáját. A GFP-t termelő *Synechocystis* PCC6803 cianobaktérium mutáns sejteket 1O_2 generáló Rosebengál (Rb) és Metilénkék (Mb) festékekkel kezeltünk nagy fényviszonyok mellett. Megfigyeltük, hogy a GFP fluoreszcencia csökkent, ami arra utal, hogy a GFP 1O_2 által közvetített lebomlása felhasználható *in vivo* 1O_2 detektálásra.

Vizsgáljuk a kioltási reakció specifitását és érzékenységet, és kísérleti paramétereket állapítunk meg egy széles körben alkalmazható *in vivo* 1O_2 detekciós értékelési módszer protokolljához.

3.

Témavezetők: Gombos Zoltán, Kovács László, Galiba Gábor

Doktori Iskola: SZTE TTIK Biológia Doktori Iskola

Ph.D. hallgató: Kovács Terézia

Témacím: A fotoszintetizáló membrán lipid összetételében bekövetkező változások

A kutatási téma leírása: A tilakoid membrán lipid összetétele meghatározó szerepet játszik a fotoszintetizáló elektron transzport lánc működésének szabályzásában a fotoautotróf élőlényekben. Munkánk során a környezeti tényezők hatására a fotoszintetizáló membrán lipid összetételében bekövetkező változásokat tanulmányozzuk (fény- és hőmérsékleti viszonyok). Keressük a választ arra a kérdésre is, hogy milyen eltérések vagy hasonlóságok fedezhetők fel a cianobaktériumok, algák és árpa növények akklimatizációs folyamataiban. Mind e mellett a fotoszintetizáló elektron transzport lánc két sebesség meghatározó alkotóelemének, a PSI-nek és a citokróm b_6/f komplexnek, az állapot átmenetben betöltött szerepét is tanulmányozzuk mutáns cianobaktérium törzsekben.

4.

Témavezetők: Vass Imre, Szabó Milán

Doktori Iskola: SZTE TTIK Biológia Doktori Iskola

Ph.D. hallgató: Bashir Faiza

Témacím: Protoplaszt technológia mint kísérleti platform oxidatív stressz vizsgálatára *Symbiodinium*-ban és egyéb mikroalgákban

A kutatási téma leírása: A szinglet oxigén (1O_2) egy fontos reaktív oxigénforma, amely a triplet klorofill molekulák (3Chl) és a molekuláris oxigén kölcsönhatásából keletkezik növényekben, algákban, és cianobaktériumokban, és közvetlen környezetében károsítja a pigmenteket, lipideket és egyéb sejtkomponenseket. A 1O_2 a fotoszintetikus apparátus fotooxidatív károsodásának egyik

fontos mediátora. A ^3Chl függő intracelluláris $^1\text{O}_2$ termelés mellett azt is megfigyelték, hogy bizonyos cianobaktériumok (*Synechocystis* sp. PCC 6803 vagy a korallokkal szimbiózisban élő *Symbiodinium* sp.) kiválasztanak bizonyos, eddig azonosítatlan metabolitokat, amelyek $^1\text{O}_2$ szenitizátorként játszanak szerepet. Az extracelluláris $^1\text{O}_2$ termelés fiziológiai szerepe még nem teljesen tisztázott, és az sem teljesen ismert, hogyan hat a sejten kívül képződő $^1\text{O}_2$ a sejtek fiziológiai folyamataira, különösen a fotoszintetikus aktivitásra. A projekt keretében vizsgáljuk a sejten kívül képződött $^1\text{O}_2$ fotoszintetikus aktivitásra gyakorolt hatását izolált tilakoid membránokban és intakt *Synechocystis* sejtekben. A projekt másik célja protoplasztok izolálása és $^1\text{O}_2$ sejten belüli képződésének vizsgálata *Symbiodinium* sp. sejtekben a Singlet Oxygen Sensor Green (SOSG) festék alkalmazásával. Fiziológiailag aktív protoplasztok előállítását, valamint a protoplasztok regenerációs képességének vizsgálata mikrofluidikai rendszerekben történik, amelyek precízen kontrollált egysejt vizsgálatokat tesznek lehetővé.

5.

Témavezetők: Kós Péter, Vass Imre

Doktori Iskola: SZTE TTIK Biológia Doktori Iskola

Ph.D. hallgató: Hódi Barbara

Témacím: Szinglet oxigén specifikus gének vizsgálata a *Synechocystis* PCC 6803 cianobaktériumban

A kutatási téma leírása: A $^1\text{O}_2$ az egyik legkárosabb hatású reaktív oxigén forma (ROS), amely többek között a fotoszintézis melléktermékeként keletkezik. Magas fényintenzitás hatására a klorofill triplet állapotba kerül, amely formában képes a molekuláris oxigénnel interakcióba lépni és annak energiát átadni, így létrehozva a szinglet oxigént.

A $^1\text{O}_2$ számos intracelluláris hatása ismert, többek között képes DNS károsodást okozni, lipid peroxidációt előidézni és a PSII működését gátolni fotoszintetikus mikroorganizmusokban a D1 fehérje degradációján keresztül.

Mára bebizonyosodott, hogy a szinglet oxigén hatással van a génexpresszióra és feltehetőleg saját jelátviteli úton keresztül fejti ki hatását. Növényekben és magasabb rendű eukarióta szervezetekben azonosítottak néhány, a szinglet oxigén intracelluláris szignál transzdukciójában résztvevő gént, azonban cianobaktériumokban még nem.

Ezért munkánk során rosebengal festék segítségével intracelluláris szinglet oxigén termelődést indukálva igyekszünk azonosítani olyan géneket, amelyek a szinglet oxigén indukálta jelátviteli folyamatok szabályozásában vesznek részt.

6.

Témavezetők: Szabó Milán, Vass Imre

Doktori Iskola: SZTE TTIK Biológia Doktori Iskola

Ph.D. hallgató: Mohammad Aslam Sabit

Témacím: A ciklikus elektron transzport szerepe és jelentősége mikroalgákban

A kutatási téma leírása: A fotoszintézis redox reakciók sorozata, melynek során számos elektron transzport folyamat biztosítja a fényenergia hasznosítás energetikai feltételeit. A fotoszintézis alapvető funkcióit biztosító lineáris elektron transzport mellett számos más alternatív elektron transzport folyamat is működik, mint pl. a ciklikus elektron transzport, ami a fotoszintézis finomhangolását és az ATP/NADPH egyensúly szabályozását végzi pl. stresszkörülmények során. A ciklikus elektrontranszport szabályozásában igen fontos a NAD(P)H dehidrogenáz (NDH) enzim szerepe, ami a tilakoid membránokon kívüli sztróma régióban található NAD(P)H és a tilakoid membránok lipid fázisában található plasztokinon molekulák közötti elektron áramlást biztosítja. Az I-es típusú NDH jól jellemzett számos mikroalgafajban, azonban néhány fajban csak a NDH-2 enzim található meg, amelynek szerepe a ciklikus elektron transzport szabályozásában nem ismert. A projekt célja a ciklikus elektron transzport fiziológiai szerepének felderítése olyan mikroalga fajokban, amelyek rendkívül fontos szerepet játszanak vízi ökoszisztémákban (a korallokkal szimbiózisban élő *Symbiodinium* sp.) vagy közvetlen jelentőséggel bírnak megújuló fotoszintetikus bioenergia (pl. biodízel) vagy értékes vegyületek (pl. karotenoidok) termelésében. A vizsgálatokat biofizikai módszerekkel (változó klorofill fluoreszcencia, NADPH fluoreszcencia, abszorpció-kinetika) végezzük. Különböző stressz körülményeket alkalmazunk, amelyek a ciklikus elektron transzport sebességét befolyásolják, az elektron transzport komponenseit pedig specifikus gátlószerekkel, illetve mutánsok alkalmazásával vizsgáljuk. Így a ciklikus elektron transzport fajspecifikus sajátosságait, illetve stresszválaszban betöltött szerepét térképezzük fel.