

Folyamatban levő Ph.D. munkák

1.

Témavezető neve: Endre Gabriella

Doktori Iskola: SZTE TTIK Biológia Doktori Iskola

Ph.D. hallgató: Kovács Szilárd

Témacím: Új szimbiotikus gének azonosítása és jellemzése *Medicago truncatula* modellnövényben.

A kutatási téma leírása: A pillangósvirágúak különlegesen a virágos növények között, mivel képesek szimbiotikus kölcsönhatásba lépni a nitrogénkötő Rhizobium baktériumokkal. Az ebben a növény-baktérium szimbiózisban résztvevő gének és fehérjék funkcióinak feltárása és megértése nemcsak az alap kutatásban, hanem az alkalmazott kutatásban is nagy jelentőséggel bír. A modellnövények fontos génjei azonosításának hatékony módja a mutánsok genetikai elemzése. Az inszerciós mutáns gyűjteményeket már sikeresen használták a nitrogénkötő szimbiózisban fontos funkcióval bíró növényi gének feltárásában. Valószínű azonban, hogy még nem azonosítottak minden növényi szimbiotikus gént. Ebben a munkában a *M. truncatula* cv. Jemalong modell növény *Tnt1* inszerciós mutáns gyűjteményét használjuk. Ennek a mutáns gyűjteménynek a felhasználásával kétezer mutáns vonal egyedeinek a szimbiotikus fenotípusát vizsgálatuk, és azokat a vonalakat választottuk ki, amelyekben károsodott szimbiotikus fenotípusú egyedek jelentek meg. Arra a mutánsokra összpontosítunk, amelyek a szimbiotikus folyamat különböző lépéseiben hibákat jeleztek, így 24 vonalat választottunk a vissza-kereszteléshez (back-cross) és további genetikai elemzésekhez. Ezekből a mutáns vonalából 11 –nél állítottunk elő szegregáló populációkat. Időközben az e vonalokhoz tartozó FST szekvenciákat is gondosan elemeztük a jelölt gén megközelítéses stratégia alkalmazásához. Az egyedek alapos fenotípus-jellemzését követően és a jelölt génekre történő genotípus-meghatározások alapján két különböző mutáns vonalban is sikerült azonosítani a szimbiotikus fenotípusért felelős mutált gént. Az egyik egy új gén, amely szerepet játszik a nitrogénkötő szimbiózis korai bakteriális inváziójában, a másik pedig a nemrégiben klónozott NAD1 egy új allélja. E két gén és fehérjetermékek jellemzése feltárja szerepüket a korai szimbiotikus szakaszokban.

2.

Témavezetők: Kereszt Attila, Kondorosi Éva

Doktori Iskola: SZTE TTIK Biológia Doktori Iskola

Ph.D. hallgató: Wang Ting

Témacím: A Sinorhizobium meliloti Rm41 törzs azon fehérjéinek azonosítása és jellemzése, melyek felelősek a *Medicago truncatula* különböző ökotípusaival kialakuló inkompatibilis kölcsönhatásokért

A kutatási téma leírása: A pillangósok és rhizobiumok közötti szimbiózist általában kölcsönösen előnyös kapcsolatnak tekintjük, azonban a partnerek folyamatosan olyan mechanizmusokat alakítanak ki, melyek segítségével maximalizálni tudják a partnerségből származó hasznukat. A növények peptidek tömegét termelhetik a célból, hogy a baktériumok egy hatékonyabb N-kötést eredményező terminális differenciálódáson menjenek keresztül. A baktériumok olyan kiegészítő funkciókra tehetnek szert, melyek segítségével csalhatnak, azaz a növényektől kapott forrásokat nem nitrogénkötésre használják fel és a szimbiotikus szervben differenciálatlan sejtek nagyobb populációját hozzák létre, amely a kölcsönhatás megszűntekor kikerül a környezetbe. Ezek a gének szignifikánsan nem gátolják a nitrogénkötést, de szimbiotikus inkompatibilitáshoz vezetnek azokban az esetekben, amikor a partner egy bizonyos gént, gén variánst hordoz. A projekt keretében a hallgató a Sinorhizobium meliloti 41 törzs által a Medicago truncatula Jemalong és F83005 ökotípusokkal létrehozott szimbiotikus inkompatibilitást okozó bakteriális és növényi géneket azonosítja és jellemzi.

3.

Témavezetők: Kereszt Attila, Kondorosi Éva

Doktori Iskola: SZTE TTIK Biológia Doktori Iskola

Ph.D. hallgató: Zhang Senlei

Témacím: Genetikai eszköztár fejlesztése a Medicago truncatula NCR peptidjeinek funkcionális vizsgálatára

A kutatási téma leírása: A Ph.D. projekt keretében kifejlesztettünk két új jelzőrendszert, amelyek egyrészt lila színű antocianinok felhalmozódásán, másrészt a gümőképzésre képtelen nsp2 mutáns növény komplementálásán alapulnak. Az antocianin alapú rendszernél a túltermeltetett vagy a specifikusan az edénnyalábokban kifejeztetett MtLAP1 gén hatására a transzgenikus gyökerek és/vagy gümők esetében lila elszíneződés figyelhető meg az antocianinok felhalmozódása miatt és így a transzgenikus szövetek szabad szemmel is felismerhetőek. Az NSP2 jelzőrendszer esetében, ahol a gén által kódolt transzkripciós faktor elengedhetetlen a gümőfejlődés elindulásához, a „hairy root” transzformálást a gümőzésre képtelen nsp2 mutáns növényeken végezzük el. Az eljárás során kapott gümők minden esetben transzgenikusak és a fenotípusuk, illetve a növény fenotípusa a gümő genotípusától függ, például CRISPR/CAS9 génszerkesztés után. Ez a két rendszer szignifikánsan le tudja csökkenteni a transzgenikus gyökerek azonosításához szükséges munkaidőt. A funkcionális gyökérgümő létrejöttéhez elengedhetetlen gümő-specifikus ciszteinben gazdag NCR169 peptidet kódoló gén feltételezett transzkripciós szabályozó elemeinek felkutatásának céljából ötvöztük a DNS affinitás kromatográfia, az élesztő-egy-hibrid (Y1H) és az EMSA módszereket, valamint felhasználtunk mind Medicago, mind szója gümőből származó biológiai anyagokat és cDNS könyvtárakat.

4.

Témavezető: Kereszt Attila

Doktori Iskola: SZTE TTIK Biológia Doktori Iskola

Ph.D. hallgató: Balla Benedikta

Témacím: Rhizobiális fehérjék szerepe a Sinorhizobium meliloti GR4 törzs és a Medicago truncatula cv. Jemalong közötti inkompatibilitásban

A kutatási téma leírása: A pillangósok és rhizobiumok közötti szimbiózist általában kölcsönösen előnyös kapcsolatnak tekintjük, azonban a partnerek folyamatosan olyan mechanizmusokat alakítanak ki, melyek segítségével maximalizálni tudják a partnerségből származó hasznukat. A növények peptidek tömegét termelhetik a célból, hogy a baktériumok egy hatékonyabb N-kötést eredményező terminális differenciálódáson menjenek keresztül. A baktériumok olyan kiegészítő funkciókra tehetnek szert, melyek segítségével csálhatnak, azaz a növényektől kapott forrásokat nem nitrogénkötésre használják fel és a szimbiotikus szervben differenciálatlan sejtek nagyobb populációját hozzák létre, amely a kölcsönhatás megszűntekor kikerül a környezetbe. Ezek a gének szignifikánsan nem gátolják a nitrogénkötést, de szimbiotikus inkompatibilitáshoz vezetnek azokban az esetekben, amikor a partner egy bizonyos gént, gén variánst hordoz. A projekt keretében a hallgató a Sinorhizobium meliloti GR4 törzs által a Medicago truncatula Jemalong ökotípusossal létrehozott szimbiotikus inkompatibilitást okozó bakteriális és növényi géneket azonosítja és jellemzi. Az azonosított fehérjék és egyéb rhizobiális fehérjék kölcsönhatásainak tanulmányozásához létrehozta és jellemzi a Sinorhizobium meliloti 1021 törzs összes kódoló szekvenciáját hordozó baktérium két-hibrid könyvtárat.

5.

Témavezető: Kereszt Attila

Doktori Iskola: SZTE TTIK Biológia Doktori Iskola

Ph.D. hallgató: Gellért Csaba

Témacím: Új szintetikus biológiai módszerek szimbiotikus baktériumok számára a nitrogénkötő gümő fertőzésében és inváziójában szerepet játszó gének azonosítására és jellemzésére

A kutatási téma leírása: A Ph.D. projekt célja olyan szintetikus biológiai eszköztár létrehozása és adaptálása rhizobium baktériumok számára, melyek segítségével a szimbiotikus gyökérgümő fejlődése során a baktériumokat az új szerv belseje felé szállító infekciós fonal kialakulásában és növekedésében szerepet játszó gének funkciója vizsgálható. Az eszköztár használatával azon gének későbbi lépésekben betöltött funkciója is tanulmányozható, melyek hibája a folyamatot az első lépésekben állítja le, így mutánsok használatával hozzájárulásuk a folyamathoz nem vizsgálható. Emellett transzkripció szinten vizsgálni fogjuk a vad típusú illetve receptor génekben hibás gazdanövények reakcióit olyan mutáns baktériumokra, melyek pl. sejtfelszíni poliszaharidok hiánya vagy módosult termelése miatt nem képesek az infekciós fonal iniciálására vagy növekedésének fenntartására.

6.

Témavezető neve: Endre Gabriella, Kondorosi Éva

Doktori Iskola: SZTE TTIK Biológia Doktori Iskola

Ph.D. hallgató neve: Al Bouni M. Anas

Témacím: Növényi eredetű NCR peptidek és azok mikrobákra gyakorolt hatásának jellemzése

A kutatási téma leírása: A Rhizobium baktériumok és pillangósvirágú növények közt létrejövő szimbiózis a kémiai ökológia lenyűgöző rendszerét képviseli, amely kémiai- és peptid-jelmolekulák széles skáláját használja egymást követő kommunikációs eseményekhez a gazdanövény és Rhizobium partnere között. A talajban a növényi jelmolekulák szelektíven hatnak a Rhizobium partnerre mikrobák milliárdjai közt és indukálják a baktériumokban a Nod-faktorok szintézisét, melyek gazda-specifikus módon kiváltják a gyökérgümők organogenezisét és kellene a növényi sejtek baktériumokkal való fertőzéséhez is. A növényi sejtekben a baktériumok nitrogénkötő bakteroidokká differenciálódnak. Az olyan hüvelyeseknél, mint a lucerna vagy a borsó, a baktériumok figyelemreméltó és visszafordíthatatlan differenciálódási folyamaton mennek keresztül, amely a baktériumok megnyúlását és elágazását eredményezi, mely genomjuk amplifikációjával, sejtosztódási képességük elvesztésével és membránszerkezetük megváltozásával van összefüggésben. Ennek a terminális bakteroid differenciálódásnak az egymást követő lépéseit a gazdanövények irányítják és a szimbiotikus gümő-specifikus ciszteinben gazdag (nodule-specific cysteine-rich) NCR és a gümő-specifikus glicinben gazdag GRP peptidek által közvetítik. A Medicago fajokban több mint 700 NCR peptid és 25 GRP peptid fejeződik ki a szimbiotikus sejtek különböző fejlődési szakaszaiban, kiváltva az endoszimbionta egymást követő érési folyamatait. Ezen növényi peptidek némelyike számos mechanizmuson keresztül hat, kölcsönhatásba lépve a baktériummembránokkal és kötődve a citoszol különböző célmolekuláihoz. Számos kationos NCR peptid széles spektrumú antimikrobiális aktivitással is rendelkezik, amelyek hatékonyan elpusztítják a különféle emberi és növényi kórokozó baktériumokat és gombákat, beleértve az antibiotikumokkal szemben rezisztens törzseket, anélkül, hogy az emberi sejtekre toxikusak lennének. A különféle patogén baktériumokon és gombákon erős antimikrobiális aktivitással rendelkező kiválasztott peptidek a jövőbeni antibiotikumok ígéretes molekulái. A Ph.D. projekt néhány kiválasztott és eddig nem jellemzett NCR peptidre összpontosít, amelyek magas expressziót mutatnak a szimbiotikus sejtek differenciálódásának meghatározott szakaszaiban. Mutánsokon vizsgáljuk a gén inaktíválásának hatását a szimbiotikus fenotípusra, ideértve a transzmissziós és a pásztázó elektronmikroszkópiát. A peptidek célpontjait tömegspektrometriával összekapcsolt pull-down kísérlettel azonosítjuk. A peptideket széleskörűen teszteljük antimikrobiális aktivitásra, és megvizsgáljuk az aktív peptidek hatásmódját.

7.

Témavezető: Kondorosi Éva

Doktori Iskola: SZTE TTK Biológia Doktori Iskola

Ph.D. hallgató: Lima Rui Dániel

Témacím: Az NCR peptidek szerepe szimbiózisban és in vitro.

A kutatási téma leírása: *Medicago truncatula*-*Sinorhizobium meliloti/medicae* szimbiózisban a nitrogénkötő baktériumok egy rendkívüli differenciálódási folyamat eredményeként jönnek létre. Ezt a folyamatot több száz növényi peptid irányítja, amelyek közül kb 700 peptid a gümő-specifikusciszteinben gazdag NCR peptid családba tartozik. Ezek a szekretált peptidek csak a Rhizobium baktériumokkal fertőzött szimbiotikus növényi sejtekben termelődnek és a sejten belül a baktériumokkal lépnek kölcsönhatásba. A peptidek hatására megszűnik a baktériumok sejtosztódási képessége és hatalmas poliplod sejtekké alakulnak. A peptidek szignál peptidje viszonylag konzerválódott, míg az érett peptidek szekvenciája rendkívül változékony és rendkívül

sokféle biológiai aktivitás forrása lehet. A doktori munka egyik célja néhány szelektált NCR peptid funkciójának megértése, valamint annak felderítése, hogy mi lehet az oka a szignál peptid konzerválódásának.

8.

Témavezető: Kaló Péter

Doktori Iskola: SZTE TTIK Biológia Doktori Iskola

Ph.D. hallgató: Pál Alexandra

Témacím: A szimbiotikus nitrogénkötésben résztvevő növényi gének azonosítása

A kutatási téma leírása: A pillangósvirágú növények és a rhizobium baktériumok között kialakuló szimbiotikus kapcsolat biztosítja a biológiai úton megkötött nitrogén jelentős részét. A szimbiotikus nitrogénkötés helye a szimbiotikus partnerek együttműködésének eredményeként a gazdanövény gyökerén kialakuló szerv, a gyökérgümő. Kutatásaink célja a Sinorhizobium fajok és a Medicago truncatula között létrejövő szimbiózis kialakulásában szerepet játszó gének azonosítása és megismerése, melyhez a folyamatban hibás növényi mutánsokat használjuk segítségként. Több, neutron besugárással vagy transzpozon inszerciós mutagenézissel előállított növényi mutáns áll rendelkezésünkre, melyek nem képesek gümőt létrehozni (Nod-mutánsok), vagy ha ki is alakul a gümő, abban hatékony nitrogénkötés nem zajlik (Fix- mutánsok). A PhD hallgató feladata a mutáns növények mikroszkópos és molekuláris biológiai jellemzése, valamint mutáns növények segítségével a szimbiotikus kapcsolat kialakításához és a nitrogénkötő gümő működéséhez szükséges növényi gének azonosítása, valamint az azonosított gének szerepének vizsgálata a rhizobiumok és a pillangósvirágú növények együttélés során.

9.

Témavezető: Kaló Péter

Doktori Iskola: SZTE TTIK Biológia Doktori Iskola

Ph.D. hallgató: Tsenddorj Bilguun

Témacím: A szimbiotikus nitrogénkötésben résztvevő növényi gének azonosítása

A kutatási téma leírása: A pillangósvirágú növények és a rhizobium baktériumok között kialakuló szimbiotikus kapcsolat biztosítja a biológiai úton megkötött nitrogén jelentős részét. A szimbiotikus nitrogénkötés helye a szimbiotikus partnerek együttműködésének eredményeként a gazdanövény gyökerén kialakuló szerv, a gyökérgümő. Kutatásaink célja a Sinorhizobium fajok és a Medicago truncatula között létrejövő szimbiózis kialakulásában szerepet játszó gének azonosítása és megismerése, melyhez a folyamatban hibás növényi mutánsokat használjuk segítségként. Több, neutron besugárással vagy transzpozon inszerciós mutagenézissel előállított növényi mutáns áll rendelkezésünkre, melyek nem képesek gümőt létrehozni (Nod-mutánsok), vagy ha ki is alakul a gümő, abban hatékony nitrogénkötés nem zajlik (Fix- mutánsok). A PhD hallgató feladata a mutáns növények mikroszkópos és molekuláris biológiai jellemzése, valamint mutáns növények segítségével a szimbiotikus

kapcsolat kialakításához és a nitrogénkötő gümő működéséhez szükséges növényi gének azonosítása, valamint az azonosított gének szerepének vizsgálata a rhizobiumok és a pillangósvirágú növények együttélés során.