

DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**A HMG-KoA REDUKTÁZ FUNKCIONÁLIS VIZSGÁLATA
MUCOR CIRCINELLOIDES-BEN**

NAGY GÁBOR

**TÉMAVEZETŐ:
DR. PAPP TAMÁS
EGYETEMI DOCENS**

BIOLÓGIA DOKTORI ISKOLA



**SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM
TERMÉSZETTUDOMÁNYI ÉS INFORMATIKAI KAR
MIKROBIOLÓGIAI TANSZÉK**

2015

BEVEZETÉS

A terpének, azaz az izoprén vázas vegyületek, a természetben előforduló egyik legnagyobb és legváltozatosabb vegyületcsoportot alkotják. Részt vesznek a sejtmembrán felépítésében (koleszterin, ergoszterin) és a sejten belüli biokémiai folyamatokban. Lehetnek színanyagok (karotinok), valamint fontos szerephez jutnak a fotoszintézisben és a fotooxidatív védelemben is. Az élő sejtben betöltött fontos szerepük miatt bioszintézisük intenzíven kutatott terület. Ezenkívül a különböző iparágak is nagy mennyiségben hasznosítják őket.

A járomspórás gombák (*Mucoromycotina*) közé tartozó *Phycomyces blakesleeanus*, *Blakeslea trispora* és *Mucor circinelloides* a mikrobiális karotinoid bioszintézis tanulmányozásának modellorganizmusai. Közülük a *Phycomyces*-ben tanulmányozták legrészletesebben a karotinoidok bioszintézisének szabályozását. A karotinoidok és az egyéb izoprénszármazékok bioszintézisének korai szakasza megegyezik. Ez az úgynevezett mevalonsav bioszintézis útvonal (MEV), mely során az acetyl-koenzim A-ból több lépésen keresztül kialakul az öt szénatomos izopentenil-pirofoszfát (IPP), ami a terpének közös építőköve. A mevalonsav bioszintézis útvonal központi lépése a 3-hidroxi-3-metilglutaril koenzim A (HMG-KoA) átalakulása mevalonsavvá, mely lépést a HMG-KoA reduktáz (HmgR) katalizálja. Mivel az enzim a korai izoprén bioszintézis egyik központi lépését határozza meg, így kihatással van az összes terpén termelődésére. A sztatin vegyületek az enzim szelektív gátlószerei. Humán gyógyászatban felhasználják őket a koleszterin szint csökkentésére, de gombaellenes hatásukat is vizsgálják.

Az HMG-KoA reduktáz gének száma az egyes élőlényekben eltérő. Az emlősökben általában egy reduktáz gén található, míg növényekben fajtól függően eltérő számban fordulnak elő. A járomspórás gombák genomja általában egy vagy két reduktáz gént kódol, azonban a *M. circinelloides* genomja 3 ilyen gént tartalmaz (*hmgR1*, *hmgR2* és *hmgR3*). Munkánk során tisztázni szeretnénk az egyes reduktázok specifikus szerepét a gomba izoprén bioszintézisében. Ezért a dolgozatban ismertetett vizsgálatok során a gének izolálását követően kísérletet tettünk a gének kópiaszámának emelésére és azok csendesítésére, valamint megvizsgáltuk, hogy e módosítások milyen hatással vannak a gombára. A gének kifejeződésének vizsgálatával képet szeretnénk kapni az egyes HMG-KoA reduktázok szabályozásáról és az kifejeződésük esetleges eltéréseiről.

Mind gyakorlati, mind pedig elméleti szempontból fontosnak tartottuk megvizsgálni a HMG-KoA reduktáz szerepét a *Mucor* sejten belüli folyamataiban (morfogenezis, apoptotikus folyamatok és stresszválasz). Ezen ismeretekről kevés információval rendelkezünk, azonban fontosak lehetnek az esetleges biotechnológiai alkalmazások szempontjából. A szabályozó

folyamatok feltárása hozzájárulna, hogy az eddigi karotinoid és terpén bioszintézis módosításával kapcsolatos eredmények felhasználásával egy, az iparban is jól használható karotinoid termelő törzset hozzunk létre. Az enzim ergoszterin bioszintézisben betöltött szerepének tisztázása pedig hasznos lehet új, a patogén gombákkal szembeni szerek kifejlesztésében is, valamint a környezethez való alkalmazkodás és a membránszerkezet kialakulásának tanulmányozása területén.

CÉLKITŰZÉSEK

Mivel a HMG-KoA reduktáz a terpén bioszintézis korai szakaszának központi lépését katalizálja, hatással lehet számos vegyület, többek közt a karotinoidok és az ergoszterin, valamint az ubikinon és egyes fehérjék prenil csoportjainak képződésére. Közvetlenül vagy az említett metabolitok szintézisén keresztül olyan fontos biológiai folyamatokat befolyásolhat, mint a membránszerkezet kialakítása, a különböző környezeti faktorokhoz való alkalmazkodás, a morfogenezis vagy az apoptotikus folyamatok. Mindezeket figyelembe véve fő célunk a karotinoid termelő járomspórás gomba, a *M. circinelloides* HMG-KoA reduktáz génjeinek azonosítása, funkcionális vizsgálata és az izoprén bioszintézisben betöltött, esetlegesen eltérő szerepük tisztázása.

Ennek érdekében a következő konkrét célokat tűztük ki magunk elé:

1. A *M. circinelloides* HMG-KoA reduktáz génjeinek izolálása és elemzése.

2010-ben fejeződött be a *M. circinelloides* teljes genomszekvenciájának meghatározása (<http://genome.jgi-psf.org/Mucci2/Mucci2.home.html>), mely nagymértékben megkönnyíti az izoprén bioszintézisben szerepet játszó gének azonosítását és jellemzését. Célul tűztük ki egyes rokon fajok *hmgR* gén szekvenciájának segítségével homológ génszakaszok keresését a *M. circinelloides* genomban, majd az így talált szekvenciák *in silico* elemzését. Az így nyert adatok alapján terveztük a legnagyobb homológiát mutató, feltételezett gének izolálását és klónozását is.

2. A *hmgR* gének kifejeződésének vizsgálata különböző tenyésztési körülmények között.

Terveink között szerepelt, hogy valós idejű kvantitatív PCR segítségével megvizsgáljuk az azonosított gének transzkripcióját eltérő környezeti feltételek, illetve tenyésztési körülmények mellett. A vizsgálat során választ kaphatunk arra, melyek azok a specifikus körülmények, amikor a gének átíródása indukálódik és arról, hogy a vizsgált körülmények esetén van-e különbség a három gén kifejeződése között.

3. A *hmgR* gének kópiaszámának emelése és a gének csendesítése.

A gének izolálását követően, olyan vektorkonstrukciók létrehozását terveztük, melyek a gének túlműködtetését és csendesítését teszik lehetővé és így alkalmasak lehetnek a funkció vizsgálatára. A sikeres transzformációt követően megvizsgálhatjuk az egyes reduktáz gének

szerepét a sejtek növekedésére, a sztatinokkal szembeni érzékenységre és a termelődő karotinoidok és ergoszterin mennyiségi változására.

4. Az egyes HmgR fehérjék sejten belüli lokalizációja.

További terveink között szerepelt az egyes reduktáz fehérjék sejten belüli lokalizációjának vizsgálata. Ennek érdekében olyan vektorkonstrukciók létrehozását terveztük, melyekben az egyes reduktáz fehérjék transzmembrán régióját kódoló génszakaszt zöld fluoreszcens fehérje génjével fuzionáltatjuk. Az endoplazmatikus retikulum és a mitokondrium festését követően vizsgálhatóvá válhat ezen organelumok és a reduktáz fehérjék esetleges kolokalizációja.

ALKALMAZOTT MÓDSZEREK

A vizsgálatainkhoz a *M. circinelloides* f. *lusitanicus* MS12 jelű törzsét választottuk.

DNS és RNS alapú technikák:

- DNS tisztítása
- RNS tisztítás, cDNS szintézis
- DNS/RNS gélelektroforézis
- Polimeráz láncreakció (PCR), valós idejű PCR (qPCR)
- DNS fragmentumok klónozása, DNS szekvenálás
- Plazmid konstrukciók létrehozása
- Baktériumok transzformációja
- Plazmid DNS tisztítása
- Northern hibridizáció

Nukleotid és aminosav szekvencia adatok elemzése:

- Nukleotid szekvenciák analízise és összehasonlítása
- A nukleotid szekvenciákból származtatott aminosav szekvenciák meghatározása és összehasonlítása

Gombák genetikai transzformációja:

- Gombaprotoplasztok képzése
- Gombaprotoplasztok polietilén-glikol (PEG)-közvetített transzformációja autonóm replikálódó expressziós vektorok alkalmazásával
- Sztatin érzékenység vizsgálat

Analitikai módszerek:

- Karotinoidok és ergoszterin tisztítása gombából
- Karotinoid minták analízise spektrofotometriás méréssel
- Ergoszterin minták analízise nagyhatékonyságú folyadék kromatográfiával (HPLC)

Mikroszkópos vizsgálatok:

- Fény-, fluoreszcens- és konfokális mikroszkóp használata
- Apoptotikus folyamatok nyomonkövetése
- GFP fúziós fehérjék vizsgálata
- Kolokalizációs vizsgálatok
- Membránfrakció tisztítás

EREDMÉNYEK

1. A *M. circinelloides* HMG-KoA reduktáz génjeinek izolálása és elemzése.

A munkánk elején a *Phycomyces blakesleeanus* és *Rhizomucor miehei hmgR* génjével kerestünk homológiát mutató szekvenciákat a *Mucor* genom adatbázisban. Három olyan gént (*hmgR1*, *hmgR2* és *hmgR3*) azonosítottunk, amelyek nagyfokú hasonlóságot mutattak az ismert gomba *hmgR* génekkel. A géneket izoláltuk, majd meghatároztuk a cDNS szekvenciájukat. A *hmgR1* és *hmgR2* esetében 5 intront azonosítottunk, míg a *hmgR3* esetében csak kettőt. Elemeztük a kódolt fehérjék feltételezett aminosav szekvenciáit is. Mind a három fehérje tartalmazza az I. típusú reduktázokra jellemző két fő domént, a variábilis N-terminális régiót és a konzervált C-terminális régiót, valamint a kettőt összekötő rövid szakaszt. Mindhárom feltételezett fehérjében azonosítottunk a NADPH- és HMG-KoA-kötő motívumokat, valamint szterol érzékelő domént (SSD). Utóbbi felelős a fehérje poszttranszlációs szabályozásáért. A HmgR1 fehérje esetében 6, a HmgR2 esetében 9, míg a HmgR3 esetében 5 transzmembrán hélixet azonosítottunk.

2. A *hmgR* gének kifejeződésének vizsgálata különböző tenyésztési körülmények között.

Valós idejű PCR segítségével vizsgáltuk a három *hmgR* gén kifejeződését különböző tenyésztési körülmények mellett. A vizsgálatok során azt tapasztaltuk, hogy a *hmgR1* transzkripciója aerob, a *hmgR3* transzkripciója anaerob körülmény között volt erősebb, míg a *hmgR2* mind két esetben erős kifejeződést mutatott. A *hmgR1* kifejeződése a hifákban volt jellemző és kifejeződésének maximumát a leoltástól számított 2. napon érte el. Az egyre növekvő hőmérsékletek hatására a kifejeződése folyamatosan csökkent, ezen kívül reagált a sóstresszre is. A *hmgR2* és a *hmgR3* gének már a csírázó spórákban is aktívak. Szignifikáns

hőmérsékletfüggést nem tapasztaltunk a két génnél. Mindkét gén kifejeződését gátolta a maltóz és a nátrium-acetát, mint egyedüli szénforrás. A *hmgR2* reagált leginkább a sóstresszre. Eredményeink azt mutatják, hogy a környezeti hatásokra a *hmgR2* átíródása változott leginkább.

3. A *hmgR* gének kópiaszámának emelése és a gének csendesítése.

A génekre alapozva olyan vektorkonstrukciókat hoztunk létre, melyek segítségével megemeltük a gének kópiaszámát (pNG vektorok), illetve csendesítettük (pAS vektorok) azokat. A transzformáció során bejuttatott gének és génszakaszok megfelelő kifejeződése érdekében a *Mucor gpd* promóter és terminális régióját használtuk. A géncsendesítést antiszensz RNS alapú géncsendesítéssel valósítottuk meg. A létrehozott vektorokkal PEG-mediált protoplaszt transzformációt hajtottunk végre, majd a transzformáns telepeket izoláltuk. Megvizsgáltuk a transzformánsok növekedését, makro- és mikromorfológiáját, karotin és ergoszterin tartalmát és a sztatinnal szembeni érzékenységüket.

A *hmgR1* gén túlműködtetésének és csendesítésének hatására jelentős változást egyik vizsgált körülmény mellett sem tapasztaltunk. A transzformáns telepek mikromorfológiájának vizsgálata során plazmakiáramlásokat tudtunk detektálni, de megváltozott hifákat nem. A gén csendesítésének hatására az izolátumok ergoszterin tartalma kismértékben csökkent a vad típusú törzshöz képest. Apoptózis festést követően mindkét típusú transzformánsban azonosítottunk nekrotikus hifákat és sejteket. A *hmgR2* gén túlműködtetésének hatására nőtt a transzformánsok karotin és ergoszterin tartalma, valamint csökkent a sztatinnal szembeni érzékenységük. A gén csendesítése szintén plazmakiáramlásokhoz vezetett, valamint csökkent az izolátumok ergoszterin tartalma is. Az esetleges apoptotikus folyamatok detektálása során itt is találtunk nekrotikus sejteket és hifarészeket. A legtöbb változást a *hmgR3* gén esetében tapasztaltuk. A gén kópiaszámának emelése hatására ezekben a transzformánsokban nőtt leginkább a karotinoid tartalom és csökkent a sztatinnal szembeni érzékenység. A gén csendesítésének hatására a transzformánsok makromorfológiája szabálytalanná vált, a hifák megduzzadtak, a hifák elágazásainak száma megnőtt és számos plazmakiáramlást azonosítottunk. Az ergoszterin szint és a karotinoid szint jelentősen lecsökkent. Apoptózis festést követően az apoptózis korai fázisát és a nekrozist is ki tudtuk mutatni. A csendesített transzformánsok spóráinak csírázó képessége is megváltozott.

4. Az egyes HmgR fehérjék sejten belüli lokalizációja.

A *M. circinelloides* HMG-KoA reduktázainak sejten belüli lokalizációjának vizsgálatához a reduktázok transzmembrán régióit GFP-vel fuzionáltattuk. A fúziós fehérjék

segítségével nyomon tudtuk követni a fehérjék sejten belüli lokalizációját. A létrehozott vektorokkal PEG-mediált protoplaszt transzformációt hajtottunk végre, majd a transzformáns telepeket izoláltuk. A transzformánsok elemzését fluoreszcens mikroszkópiával kezdtük meg, melynek során azt tapasztaltuk, hogy mindhárom fehérje a sejten belül egy nagyméretű organellumban lokalizálódik, illetve a HmgR2 emellett számos kisebb, jól körülhatárolható kompartmentben is megjelent. Ahhoz, hogy a fehérjék pontos lokalizációját meghatározzuk endoplazmatikus retikulum és mitokondrium festést alkalmaztunk, majd a festett mintákat konfokális mikroszkóppal vizsgáltuk. A HmgR2 és a HmgR3 a festéseket követően egyértelmű kolokalizációt mutattak az endoplazmatikus retikulummal, azonban a mitokondriummal nem.

EREDMÉNYEK

Vizsgálataink során a következő fő hasonlóságokat és különbségeket azonosítottuk a *M. circinelloides* három *hmgR* génje között:

1. A *hmgR1* gén aerob körülmények között íródik át, csak a hifákban és a spóráképződés időszakában. A gén relatív transzkripciós szintje a *hmgR2*-nél és *hmgR3*-nál mért értékekhez viszonyítva igen alacsony, és csak ennél a génnél mutattunk ki hőmérsékletfüggő transzkripciót. Anaerob körülmények között a gén aktivitása jelentősen lecsökken. A gén megváltozott működésének hatására (kópiaszámának emelése, csendesítése) a gomba karotinoid és ergoszterin termelése nem változott, ugyanakkor hatással lehet a citoplazma membrán integritására. A HmgR1 fehérje jellemzően a spórákban és a csíratömlőben jelenik meg és feltehetőleg az endoplazmatikus retikulum membránjába ágyazódik.
2. A *hmgR2* gén aerob és anaerob tenyésztési körülmények mellett erős aktivitást mutatott, valamint relatív transzkripciós szintjét összehasonlítva a másik két gén értékeivel megállapítottuk, hogy az anaerob tenyésztést leszámítva e gén a legaktívabb a három reduktáz gén közül. A spórák csírázásának idején és az intenzív micéliumképzés során relatív transzkripciós szintje magas. A növekvő só koncentráció változásával párhuzamosan nőtt a relatív transzkripciós szintje, azonban a szénforrások közül a trehalóz és a maltóz gátolta a kifejeződését. A gén túlműködtetésének hatására a transzformáns törzsek karotinoid és ergoszterin tartalma jelentősen megnőtt, ugyanakkor a sztatinnal szembeni érzékenysége lecsökkent. Mivel a HMG-KoA reduktáz az ergoszterin bioszintézisben is központi jelentőséggel bír, a HmgR2

funkcionális vizsgálata hasznos lehet új, a patogén gombákkal szembeni szerek kifejlesztése és terápiás célpontok megtalálása szempontjából is. Az ergoszterin bioszintézis a gombaellenes terápiák egyik legfontosabb célpontja. Újabban HMG-KoA reduktáz gátlók alkalmazási lehetőségét is intenzíven kutatják (Galgóczy és mtsi. 2011). A gén csendesítésének hatására csökkent a karotinoid és ergoszterin mennyisége, valamint a citoplazma membrán integritásában is zavarok keletkeztek. A HmgR2 fehérje a sejten belül az endoplazmatikus retikulum membránjában helyezkedik el, azonban a konfokális mikroszkópos vizsgálatok nem zárják ki más, kisebb méretű kompartmentekben történő lokalizációját sem.

3. A *hmgR3* gén kifejeződését nagyban befolyásolja a környezet oxigéntartalma, ugyanis anaerob körülmények között megnő a gén relatív transzkripciós szintje. A gén terméke fontos a spórák csírázásának idején, valamint a spóráképződés időpontjában. Hőmérsékletfüggést, mint a *hmgR1* esetében, vagy szerepet az ozmotikusan megváltozott környezethez való adaptálódáshoz, mint a *hmgR2* esetében, nem találtunk. Leginkább e gén terméke befolyásolta a termelődő karotinoid mennyiséget és az ergoszterin bioszintézisre is hatással volt. A gén csendesítése csökkentette leginkább a termelődő ergoszterin tartalmat. A *hmgR3* és a *hmgR2* felhasználható a karotinoid bioszintézis fokozására és esetleg egy, az iparban is alkalmazható karotinoid termelő törzs létrehozására. A gén csendesítésének hatására a termelődő karotinoid mennyiség jelentősen lecsökkent, a gomba makro- és mikromorfológiája megváltozott, valamint apoptotikus folyamatok játszódtak le a sejtekben. A spórák elvesztették csírázókéességüket és a csírázás ideje jelentősen kitolódott. A járomspórás gombákban lezajló apoptotikus folyamatokról igen keveset tudunk, emiatt a gén kiváló célpontja lehet az ezirányú kutatásoknak.

A DOLGOZAT ALAPJÁT KÉPZŐ KÖZLEMÉNYEK

Referált folyóiratokban megjelent publikációk

Nagy G., Imre G., Csernetics Á., Petkovits T., Nagy G.L., Szekeres A., Vágvölgyi Cs., Papp, T. (2011) A prenyl pyrophosphate synthase gene from the zygomycete fungus, *Gilbertella persicaria*. *Acta Biol. Szeged.* 55 (1): 7-12.

Nagy G., Csernetics Á., Bencsik O., Szekeres A., Vágvölgyi Cs., Papp T. (2012) Carotenoid composition of Mucorales fungi. *Afr. J. Microbiol. Res.* 6: 7265-7270.

Papp T., Csernetics Á., **Nagy G.**, Bencsik O., Itturiaga E.A., Eslava A.P., Vágvölgyi Cs. (2013) Canthaxanthin production with modified *Mucor circinelloides* strains. *Appl. Microbiol. Biot.* 97: 4937-4950. *IF: 3,811*

Nagy G., Farkas A., Csernetics Á., Bencsik O., Szekeres A., Nyilasi I., Vágvölgyi Cs., Papp T. (2014) Transcription of the three HMG-CoA reductase genes of *Mucor circinelloides*. *BMC Microbiol.* 14(93): 10. *IF: 2,976*

A dolgozat témájához kapcsolódó konferencia összefoglalók

Nagy G., Csernetics Á., Vágvölgyi Cs., Papp T. (2009) Cloning and characterization of three HMG-CoA reductase genes in *Mucor circinelloides*. *Acta. Microbiol. Hung.* 56: 210.

Nagy G., Farkas A., Imre G., Csernetics Á., Vágvölgyi Cs., Papp T. (2011) HMG-CoA reductase genes of the carotenoid producing fungus, *Mucor circinelloides*. *Acta. Microbiol. Immunol. Hung.* 58: 190.

Papp T., Csernetics Á., **Nagy G.**, Farkas A., Vágvölgyi Cs. (2012) Modification of the acetate-mevalonate pathway in the beta-carotene producing fungus, *Mucor circinelloides* 15th European Congress on Biotechnology Istanbul, Turkey *New Biotechnol.* 29(S): 214-215.

Nagy G., Csernetics Á., Imre G., Vágvölgyi Cs., Papp T. (2010) Characterization of HMG-CoA reductase genes in *Mucor circinelloides*. 11th International Symposium "Interdisciplinary Regional Research ISIRR, Szeged, Hungary, Abstracts CD 101.

Nagy G., Csernetics Á., Vágvölgyi Cs., Papp, T. (2010) HMG-CoA reductase genes of *Mucor circinelloides*. CESC-2010, Szeged, Hungary, Abstracts p. 66.

Nagy G., Csernetics Á., Imre G., Farkas A., Vágvölgyi Cs., Papp T. (2011) Characterization of HMG-CoA reductase genes of the carotenoid producing *Mucor circinelloides*. 2nd CEFSE, Novi Sad, Abstract p. 54.

Nagy G., Farkas A., Csernetics Á., Vágvölgyi Cs., Papp T. (2012) Functional characterization of three HMG-CoA reductase genes in the beta-carotene producing *Mucor circinelloides*. 11th ECFG, Marburg, Germany, Abstract p. 97.

Nagy G., Farkas A., Csernetics Á., Vágvölgyi Cs., Papp T. (2012) Differences in expression and function among three HMG-CoA reductase genes of *Mucor circinelloides*. 5th Hungarian Mycological Conference Budapest, Hungary, Abstract p. 39.

Nagy G., Farkas A., Csernetics Á., Vágvölgyi Cs., Papp T. (2012) What is the role of HMG-CoA reductase genes in the carotene producer *Mucor circinelloide*? A Magyar Mikrobiológiai Társaság 2012. Nagygyűlése Keszthely, Hungary, Abstract pp. 31-32.

Nagy G., Krizsán K., Petkovics T., Vágvölgyi Cs., Papp T. (2012) Molecular identification and susceptibility to antifungal agents of clinically important *Bipolaris* strains. 3rd Central European Summer Course on Mycology: Biology of pathogenic fungi, Szeged, Hungary. Abstract p. 84.

Papp T., **Nagy G.**, Farkas A., Páll O., Csernetics Á., Vágvölgyi Cs. (2013) Functional characterization of HMG-CoA reductase genes in *Mucor circinelloides*. Emerging Zygomycetes, a new problem in the clinical lab, Utrecht, The Netherlands, Abstract pp. 31.

Nagy G., Farkas A., Páll O., Csernetics Á., Vágvölgyi Cs., Papp T. (2013) Silencing of HMG-CoA reductase genes with antisense RNA in *Mucor circinelloides*. 5th Congress of European Microbiologist, FEMS-2013, Leipzig, Germany, Abstract 1263. pdf

Nagy G., Farkas A., Páll O., Csernetics Á., Bencsik O., Vágvölgyi Cs., Papp T. (2013) Effects of HMG-CoA reductase on carotenoid and ergosterol biosynthesis and morphology in *Mucor circinelloides*. Power of Microbes in Industry and Environment 2013, Primosten, Croatia, Abstract pp. 70.

Papp T., **Nagy G.**, Farkas A., Páll O., Csernetics Á., Vágvölgyi Cs. (2013) Functional characterization of HMG-CoA reductase genes in *Mucor circinelloides*. Emerging Zygomycetes, a new problem in the clinical lab: A workshop of the ECMM/ISHAM Working Group on Zygomycetes p. 31.

Nagy G., Páll O., Farkas A., Csernetics Á., Vágvölgyi Cs., Papp T. (2014) Function and subcellular localization of *Mucor circinelloides* HMG-CoA reductase 2 and 3. 12th European Conference on Fungal Genetics (ECFG12) p. 358.

Egyéb referált folyóiratban megjelent közlemények

Papp T., **Nagy G.**, Csernetics Á., Szekeres A., Vágvölgyi, Cs. (2009) Beta-carotene production by Mucoralean fungi. *J. Eng. Ann. Fac. Eng. Huned.* 7: 173-176.

Csernetics Á., **Nagy G.**, Iturriaga E.A., Szekeres A., Eslava A.P., Vágvölgyi Cs., Papp T. (2011) Expression of three isoprenoid biosynthesis genes and their effects on the carotenoid production of the zygomycetes *Mucor circinelloides*. *Fung. Genet. Biol.* 48: 696-703. *IF: 3,737*

Csernetics Á., Tóth E., Farkas A., **Nagy G.**, Bencsik O., Manikandan P., Vágvölgyi Cs., Papp T. (2014) Expression of a bacterial β -carotene hydroxylase in canthaxanthin producing mutant *Mucor circinelloides* strains. *Acta Biol. Szeged.* 58(2): 139-146.

Csernetics Á., Tóth E., Farkas A., **Nagy G.**, Bencsik O., Vágvölgyi Cs., Papp T. (2015) Expression of *Xanthophyllomyces dendrorhous* cytochrome-P450 hydroxylase and reductase in *Mucor circinelloides*. *W. J. Microbi. Biotech.* 31(2): 321-336. *IF: 1,353*

ÖSSZESÍTETT IMPAKT FAKTOR: 11,877