

A Doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

**NEHÉZFÉM ÉS SZINGLET OXIGÉN ÉRZÉKELÉS
SYNECHOCYSTIS PCC 6803 CIANOBAKTÉRIUMBAN**

PATYI GÁBOR

Témavezetők:

Dr. Kós Péter

Dr. Vass Imre

Biológia Doktori Iskola, SZTE-TTIK

ELKH Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Növénybiológiai Intézet



Szeged

2022

BEVEZETÉS

A jelen dolgozatomban kísérleti modellszervezete a *Synechocystis* sp. PCC 6803 (*Synechocystis*) kék-zöld baktérium vagy más néven cianobaktérium. A *Synechocystis* egysejtű, édesvízi, oxigéntermelő fotoszintézist folytató, fotoautotróf Gram-negatív baktérium, amely az egyetlen olyan ismert prokarióta törzs, melynek tagjai oxigéntermelő fotoszintézis végrehajtására képesek. Kisméretű genomja, valamint a molekuláris biológiai és egyéb fiziológiai mérések során tapasztalt könnyű kezelhetőségének köszönhetően rendkívül nagy figyelmet kap az alap- és alkalmazott kutatások során.

A cianobaktériumok specifikus génexpressziós változásokkal képesek reagálni számos környezeti stressztényezőre és szennyezőre, ezért előszeretettel alkalmazzák őket bioriporterek létrehozására. A „bakteriális bioriporter” kifejezés fokozatosan egyenértékűvé vált a genetikailag módosított baktériumokkal, amelyekben egy, vagy több szabályozó hálózatot hoznak létre felismerhető és számszerűsíthető eredmények előállítására.

Különböző fémérzékelő bakteriális rendszereket teljes sejtes bioriporterek előállítására már többször felhasználtak. A *Synechocystis* cianobaktérium genomában található egy olyan géncsoport, amely részt vesz a cink, kobalt és nikkell homeosztázis kialakításában. Ezek a speciális nehézfémekre reagáló gének promóterei riportergének elé helyezve használhatóak egész sejtes nehézfém bioriporterek előállítására. Ugyanakkor ez az ígéretes téma számos kihívást rejt magában. Rendkívül nehéz olyan géneket találni, melyek specifikusan és nagy érzékenységgel képesek kimutatni az adott nehézfém szennyeződést, akár kis mértékben szennyezett környezeti mintában is. Ezért is nagyon fontos a már felfedezett és jól ismert szereppel bíró géneken alapuló bioszenzorok érzékenységének javítása annak érdekében, hogy az alacsony, ám az egészségre mégis káros nehézfém koncentrációk környezetbarát módon minél nagyobb érzékenységgel és szelektivitással kimutathatók legyenek.

A nehézfémeken kívül, más anyagok kimutatása is megoldható az egész sejtes bioriporterekkel. Ilyen lehet a szinglet oxigén is, mely egy igen erős ROS és szignalizációs útvonalairól a *Synechocystis*-ben még nagyon keveset tudunk.

A szinglet oxigén könnyen oxidálja a különböző molekulákat, ezért citotoxikus. Képződése elkerülhetetlen a fotoszintetikus folyamatok során, mely az úgynevezett II-es típusú fényfüggő fotodinamias reakcióhoz köthető. Ennek a folyamatnak a részeként az

abszorbeálódott foton képes gerjeszteni egy olyan szinglet állapotú pigmentet, mint például a klorofillt, és egy interkonverziót követően triplett állapotú klorofillá alakítja.

Az utóbbi évtizedben igen jelentős hangsúlyt kapott az a felismerés, hogy a szinglet oxigén képes lehet jelátviteli útvonalakban részt venni és hatással lehet a génexpresszióra is.

Ennek a folyamatnak a nyomon követése viszont nagyon nehézkes, mivel az intracelluláris szinglet oxigén folyamatos *in vivo* nyomon követése a sejteken belül a jelenlegi detekciós technikákkal lehetetlen. Ennek megoldását jelenthetik az egész sejtés szinglet oxigén bioriporterek, melyekhez specifikus szinglet oxigén érzékeny gének promóterei szükségesek. Az ilyen riporter sejtek lehetővé tennék a szinglet oxigén sejten belüli jelátviteli kapcsolatainak monitorozását, mellyel még többet tudhatnánk meg a szinglet oxigén jelátviteli molekulaként betöltött szerepéről a cianobaktériumokban.

CÉLKITŰZÉSEK

Munkánkat két fő irány határozta meg, melyeket egy közös pont fűzött össze: egész sejtés bioriporterek fejlesztése *Synechocystis* PCC 6803 cianobaktérium sejtekben.

1. Az egyik fő kutatási irányunknak a nehézfém (HM) bioszenzor törzsek érzékenységének növelését tűztük ki. A munkahipotézisünk az volt, hogy a nehézfémeket a sejtekből eltávolító transzporterek inaktiválásával megnövelhető a sejteken belüli nehézfém koncentráció, ami a nehézfémek által történő génindukciós választ felerősítheti.
2. Másik fő célkitűzésünk, a szinglet oxigén ($^1\text{O}_2$) jelmolekulaként betöltött szerepének tanulmányozása volt *Synechocystis*-ben. Ehhez céljaink között szerepelt a specifikusan $^1\text{O}_2$ hatására indukálódó gének azonosítása, deléciós mutánsokkal történő fenotipizálása, valamint az, hogy egy ilyen gén promóterét felhasználva $^1\text{O}_2$ -specifikus teljes sejtés bioszenzor törzset fejlesszünk ki, ami lehetővé teszi az intracelluláris $^1\text{O}_2$ *in situ*, *in vivo* folyamatos kimutatását.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Az alkalmazott cianobaktérium törzsek növekedési körülményeinek és nehézfém-só kezelések hatásainak vizsgálata

Kísérleteink során vad típusú PCC 6803 *Synechocystis* cianobaktérium törzset (WT), valamint az általunk létrehozott, HM klaszter hiányos $\Delta nrsSRBACD$: $\Delta coaRT$: $\Delta ziaRA$ (röviden NiCoZia) törzsekkel dolgoztunk. Ezen kívül létrehoztuk még a $\Delta hliB$ törzset, melyben a *hliB* (*ssr2595*, *SGL_RS16470*) gén kiütésre került, valamint több általunk előállított lumineszcens bioszenzor törzset, melyek előállítása a p_{ILA} promóter próba vektor használatán alapul (Kunert et al., 2000). A *Synechocystis* sejteket fotoautotróf 3% CO₂-tartalmú atmoszférikus körülmények között neveltük, 30-40 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fehér fényen és 30 °C hőmérsékleten, BG-11 (Rippka et al., 1979) folyékony tápközegben növesztve.

A rutin DNS-manipulációkhoz és a plazmid konstrukciók létrehozásához *Escherichia coli* DH5 α törzset alkalmaztunk. Az *E. coli* sejteket Luria broth (LB) táptalajban neveltük 37 °C-on (J. Sambrook, D.W. Russell, 2001).

A nehézfém-só kezeléseket 96 lyukú fekete, alacsony autofluoreszcenciájú (Perkin-Elmer Opti-Plate) sejttenyésztő lemezen hajtottuk végre, 25°C-on; normál CO₂ tartalmú légkörben, 40 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{s}^{-1}$ megvilágítás alatt. Minden well 200 μL log fázisú cianobaktérium sejt kultúrát (OD₇₂₀ 0,8-1) és 100 μL különböző koncentrációjú nehézfém-só oldatot tartalmazott. A 3 órás kezelést követően lumineszcenciát mértünk.

A szinglet oxigén kezeléseket 10 mL térfogatban LED fényforrással ellátott vízfürdő rendszerben hajtottuk végre, 30°C-on, normál CO₂ tartalomú légkörben. Az alacsony, nevelési fénykezelések során (LL) 40 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{s}^{-1}$ intenzitású megvilágítást, míg a fénystressz kiváltására 200 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (HL) intenzitású megvilágítást használtunk. Kísérleteink során Rb-t vagy Mb-t alkalmaztunk fotoszenzitizátor festékként 0,5 μM végkoncentrációban, illetve ¹O₂ gátlószerként His-t 5 mM-os koncentrációban.

Génexpressziós vizsgálatok

A transzkriptek vizsgálatához össz-RNS-t tisztítottunk a kezelés alatt levő sejttenyészetekből, majd ezt mintaként használva reverz transzkripció reakcióban komplementer DNS-t (cDNS) szintetizáltunk. Az így kapott cDNS-t qPCR reakcióban használtuk templákként és a felszaporodó amplikonok C_T értékét a 16S riboszómális RNS-t kódoló *rrn16S* gén C_T értékeihez viszonyítottuk. Ez utóbbit, konstitutív kifejeződése révén,

kontroll génként használtuk. Ezen felül az ábrákon látható transzkript szintek értékei a kezeletlen minták C_T értékeire vannak normalva. A qPCR reakciókhoz a reakciók térfogata 5 μL volt, amit 1 μL 5 X HOT FIREPol EvaGreen qPCR Mix Plus (Solis BioDyne), 0,1 μL cDNS minta, 3,8 μL MilliQ víz, 0,1 μL génspecifikus primer vegyület (5 pmol/ μL) alkotott. A kapott C_T értékeket a Bio-Rad CFX Maestro 1.1 szekvencia detekciós szoftver segítségével nyertük ki és értékeltük.

A cDNS-könyvtárakat 0,5 μg teljes RNS-ből állítottuk elő NEBNext rRNA depletion Kit for Bacteria #E7850, #E7860 (Biolabs) segítségével. A szekvenálást Illumina platformon keresztül végeztük el.

Biolumineszcencia mérés

A kezeléseket 96 lyukú fekete (Perkin-Elmer Opti-Plate) sejttenyésztő lemezen hajtottuk végre, alacsony autofluoreszcenciával, 25 °C-on. Minden well 300 μL log fázisú kezelt cianobaktérium sejt kultúrát (OD_{720} 0,8-1) tartalmazott. A lemezeket lyukasztott átlátszó fóliával borítottuk be (Peca et al. 2008). A kezelés után 6 μL 50 mM dekanált adtunk 50 %-os metanolban oldva a lyukakba helyezett mintákhoz. A dekanál a 300 μL cianobakteriális és nehézfémoldatban, így 1 mM végkoncentrációban volt jelen (Kunert et al., 2000). A szubsztrátum hozzáadása után a mintákat 2 percig sötétben inkubáltuk a lumineszcencia mérés előtt. A vizsgálatokat négy párhuzamos mintával végeztük. A lumineszcenciát Top Count NXT luminométerrel (Packard Instruments) határoztuk meg, beütés per másodperc (CPS) értékkel.

Növekedésgörbék összehasonlítása

A WT és NiCoZia cianobaktérium kultúrákban a fémionok intracelluláris felhalmozódása által okozott növekedési különbségeket úgy számszerűsítettük, hogy az optikai denzitást 2–4 napig 680 nm-en és 720 nm-en mértük 30-40 μmol foton $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fényintenzitáson és 30 °C hőmérsékleten. A starter *Synechocystis* kultúra optikai sűrűségét minden mérésnél azonos kiindulási értékre állítottuk (OD_{720} 0,15), és nehézfémoldatot adtunk hozzá 8 különböző koncentrációban 50 mL végtérfogatban.

A WT és $\Delta hliB$ cianobaktérium tenyészetekben a $^1\text{O}_2$ felesleg által okozott a növekedési sebességben okozott különbségeket úgy határoztuk meg, hogy az optikai denzitást 680 nm-en mértük 40 μmol foton $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fehér fényintenzitással (LL), vagy 200 μmol foton $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fehér fényben (HL) 30 °C hőmérsékleten 4 napig. A starter *Synechocystis* tenyészet optikai sűrűségét

OD₇₂₀ 0,15-re állítottuk 50 mL végtérfogatban, majd LL és HL körülmények között neveltük, megfelelő fotoszenzitizer festék (0,5 μM-os Mb vagy Rb) hozzáadásával vagy anélkül.

A méréshez egy foto-multikultivátor MC-1000 (Photon Systems Instrument) készüléket használtunk óránkénti automatikus OD protokollal.

Az intracelluláris HM koncentráció meghatározása

Az intracelluláris kobalt-, cink- és nikkeltartalmat a WT és a NiCoZia *Synechocystis* törzsekben határoztuk meg, melyek a bioripporter törzsek alapjául szolgáltak. A sejt kultúrákat a kontroll (0 μM hozzáadott nehézfém) mellett 5 μM nehézfémekkel kezeltük; ZnSO₄; CoCl₂ vagy NiCl₂ –al a fentiek szerint, 3 órás inkubálás után centrifugálással (6000 rpm 10 perc) gyűjtöttük össze, BG-11 oldattal mostuk és fagyasztva szárítottuk. 50 mL-es tenyészetekből 40 ± 5 mg nedves tömegű sejt pelletet tudunk kinyerni, amelyből 5 ± 1 mg száraz anyagot lehetett nyerni, majd ICP-MS-el meghatároztuk nehézfém tartalmukat.

Adatelemzés és ábrázolás

A kísérleteink eredményeit Microsoft Office Excel 2016 táblázat kezelő program, valamint OriginPro 2021b adatelemző program segítségével értékeltük ki. A molekuláris biológiai munkák *in silico* tervezése és a teljes transzkriptom adataink elemzését CLC Genomics Workbench 20.0.2 program segítségével hajtottuk végre.

A statisztikai analízishez Student féle t-próbát használtunk, ahol a kapott eredmények $P \leq 0,05$ (*), 0,001 (**), vagy 0,001 (***) valószínűségi szinteken szignifikánsan különböznek egymástól.

AZ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

Nehézfém bioriporterek érzékenységének növelése

- 1) Az egyes fémionokra adott sejtválaszok, azok intracelluláris koncentrációjától függenek, amelyet a kiáramlási és beáramlási rendszerek, valamint az ioncsatornák együttes működése határoz meg. A három nehézfém exportjáért felelős gén klaszter eliminálásával olyan mutánst hoztunk létre, amely gátolt növekedést mutatott a vad típusú törzshöz képest, a már korábban leírt IC_{min} koncentrációk alatt is. Ez a növekedés gátló hatás akár 20-szoros is lehet egyes nehézfémek esetében.
- 2) A NiCoZia törzs növekedés gátlása a megnövekedett intracelluláris nehézfém-koncentráció hatása volt, melynek háttérében a megfelelő transzporterek hiánya állt, ezt az intracelluláris HM tartalom ICP-MS-meghatározása is megerősíti.
- 3) A NiCoZia törzs nehézfém érzékenysége felhasználható volt a specifikus biolumineszcens riporter konstrukciók érzékenységének javítására. A lumineszcencia mérések alapján mind a három vizsgált nehézfémre megnövekedett a sejtválasz. A cink esetében mintegy tízszeres szenzitivitás növekedés volt megfigyelhető a NiCoZia bioriporterekben, mint a WT háttérű riporterekben.
- 4) Az *nrsRS-1* orientáció, ahol a *Synechocystis*-ben eredetileg is fennálló gén és promóter irány fennmaradt, csak az eredeti transzporter gének helyébe a luciferáz riporter fehérje génjei léptek, magasabb szintű indukciót eredményez, és hatékonyabbnak tűnik, mint az ellenkező, *nrsRS-2* orientáció.
- 5) A belső Zn^{2+} koncentráció kb. 20%-os növekedése a megfelelő bioriporter törzs kimutatási határának tízszeres növekedését eredményezte. Ez az eredmény azt mutatja, hogy a genom korlátozott manipulálásával jelentős javulás érhető el, ami a bioszenzorok alkalmazását még versenyképesebbé és értékesebbé teheti a környezeti monitorozásban.
- 6) A jelenleg leírt riporter fehérje rendszert használó egész sejtes Ni^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} bioriporterek közül szenzitivitásban kiemelkedik az általunk létrehozott konstrukció.

Szinglet oxigén érzékeny gének kimutatás a *Synechocystis*-ben

- 7) Munkánk során sikerült egy olyan teljes transzkriptom analízist végrehajtani, ahol a HL megvilágítás során képződő endogén $^1\text{O}_2$ mellett, exogén $^1\text{O}_2$ -nel kezeltük a cianobaktérium sejteket. Ehhez Mb és Rb fotoszenzitizer festéket alkalmaztunk kis koncentrációban (0,5 μM), mely nem toxikus a sejtnek, de elegendő $^1\text{O}_2$ -t generált a stressz kiváltásához. A $^1\text{O}_2$ -re adott válaszok specifitását a $^1\text{O}_2$ képződését gátló His alkalmazásával igazoltuk.
- 8) Sikerült ezzel a teljes transzkriptom analízissel olyan génjelölteket találni, melyek endogén és exogén módon generált $^1\text{O}_2$ jelenlétében indukciót, míg a $^1\text{O}_2$ gátlószer His jelenlétében repressziót mutattak, ezzel igazolva/alátámasztva a $^1\text{O}_2$ függésüket. A gének közül kiemelkedő jelöltnek bizonyult a *hliB* magasfény indukált gén, melynek HL indukciója melletti endogén és exogén $^1\text{O}_2$ kiváltott génexpressziója többszörösen bizonyítást nyert.
- 9) A *hliB* gén hiányában a $\Delta hliB$ *Synechocystis* sejtek erőteljes növekedés gátlást mutatnak konstans exogén $^1\text{O}_2$ kezelés során a WT sejtek növekedéséhez viszonyítva.
- 10) A *hli* géncsalád többi tagjának (*hliA*; *hliC* és *hliD*) HL indukcióját kivéve, nem találtunk szignifikáns jelet arra, hogy a *hliB* génen kívül a géncsalád többi tagja kapcsolatban állna a $^1\text{O}_2$ -nel és annak szignáltraszdukciós szabályozásával. Ezen gének vagy nem, vagy ha részben kötődnek is a $^1\text{O}_2$ szignalizációhoz, nagyon csekély mértékben tehetik azt.
- 11) A pIL*AhliB* riportterrel folytatott lumineszcencia mérések során jól látható volt a *hliB* gén HL indukciója, hasonlóan a génexpressziós kísérletekhez. A lumineszcencia kísérletek megerősítették a korábbi génexpressziós kísérletek eredményeit, melyek szerint a *hliB* HL indukcióján felül az endogén és a külsőleg hozzáadott exogén $^1\text{O}_2$ is képes a gént indukálni. A lumineszcencia a Mb és Rb mintákban jóval magasabb volt, mint a csak HL kezelt mintákban. Ezzel párhuzamosan, a His jelenléte a lumineszcencia csökkenését eredményezte ezekben a mintákban, mely igazolja a jelenség $^1\text{O}_2$ specifitását.
- 12) A fenti eredmények tükrében sikerült a *hliB* gén $^1\text{O}_2$ függőségét igazolni a génexpressziós és biolumineszcencia mérésekkel, illetve a $\Delta hliB$ törzs $^1\text{O}_2$ jelenléte alatt bekövetkező növekedés lemaradásának nyomon követésével. Utóbbi megfigyelésünkből arra is bizonyítást nyertünk, hogy a HliB fehérje részt vesz a $^1\text{O}_2$ sejtkárosító hatásainak

csökkentésében, hiszen hiányában a sejtek erőteljes növekedésgátlást mutatnak. Ezek az eredmények lehetővé tették célunk elérését, hogy specifikus, szelektív és érzékeny $^1\text{O}_2$ mérési módszert dolgozzunk ki a cianobaktériumokban, jelen esetben a *Synechocystis* PCC 6803-ban.

- 13) A *hliB*-n kívül a $^1\text{O}_2$ -re indukálódó gének, illetve a gátolt gének között több érdekes, már korábban is az oxidatív stresszel kapcsolatba hozott gén is megfigyelhető volt. Ilyen gének például az *idiA* és *idiB*, vagy az *isiA*, melyek vas érzékenyséjük mellett $^1\text{O}_2$ -re is érzékenyek, illetve a mi munkánk során is ezek a gének egyes esetekben (Rb kezelés) indukálódtak, sőt az *isiA*-t a His jelenléte gátolta.
- 14) A $^1\text{O}_2$ -re indukálódó gének között szerepelt egy Scp szerű, magasfény függő és Chl kötő fehérjét kódoló gén; egy fasciclin domént tartalmazó fehérjét kódoló gén, valamint az RNS polimeráz szigma faktorát kódoló gén, illetve egy treonin szintáz kódoló gén, melyeket már együttesen, vagy külön-külön többször is kapcsolatba hoztak, különböző a *Synechocystis* stresszfolyamatok során, ugyanakkor teljes funkciójuk és egymással való kapcsolatuk máig tisztázatlan.
- 15) Sikeresen kimutattuk, hogy léteznek olyan $^1\text{O}_2$ -re gátlódó gének, melyek specifikus génexpressziós csökkenést mutatnak a $^1\text{O}_2$ jelenlétében, igaz jóval kevesebb számban, mint a $^1\text{O}_2$ indukált gének. A $^1\text{O}_2$ génexpressziójának ezen oldalával az irodalom eddig még számottevően nem foglalkozott, mi viszont kimutattuk, hogy érdemes foglalkozni a $^1\text{O}_2$ repressziós hatásával. A $^1\text{O}_2$ -re gátlódó gének között szintén akadt olyan, melyet már korábban kapcsolatba hoztak az oxidatív és egyéb stresszhatásokkal a *Synechocystis*-ben. Ezen gének közül, a *hspA*-t és a *coaT* kivéve, mind hipotetikus fehérjét kódoló gén. Ilyen gén például az *sl10846*-os gén, valamint az *slr7008*-as gén is.

PUBLIKÁCIÓS LISTA

A doktori eljárás alapját képező 2 db közlemény

Patyi, G., Hódi, B., Solymosi, D., Vass, I., & Kós, P. B. (2021). Increased sensitivity of heavy metal bioreporters in transporter deficient *Synechocystis* PCC6803 mutants. *Plos One*, 16(12), e0261135. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0261135> **IF:3.58**

Poór, Péter, **Gábor Patyi**, Zoltán Takács, András Szekeres, Nikolett Bódi, Mária Bagyánszki, and Irma Tari. 2019. "Salicylic Acid-Induced ROS Production by Mitochondrial Electron Transport Chain Depends on the Activity of Mitochondrial Hexokinases in Tomato (*Solanum Lycopersicum* L.)." *Journal of Plant Research* 132 (2): 273–83. <https://doi.org/10.1007/s10265-019-01085-y>. **IF:2.19**

Referált folyóiratban megjelent közlemények

A disszertáció témájához kapcsolódó közlemények

Patyi, G., Hódi, B., Solymosi, D., Vass, I., & Kós, P. B. (2021). Increased sensitivity of heavy metal bioreporters in transporter deficient *Synechocystis* PCC6803 mutants. *Plos One*, 16(12), e0261135. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0261135> **IF:3.58**

Egyéb közlemények

Poór, Péter, **Gábor Patyi**, Zoltán Takács, András Szekeres, Nikolett Bódi, Mária Bagyánszki, and Irma Tari. 2019. "Salicylic Acid-Induced ROS Production by Mitochondrial Electron Transport Chain Depends on the Activity of Mitochondrial Hexokinases in Tomato (*Solanum Lycopersicum* L.)." *Journal of Plant Research* 132 (2): 273–83. <https://doi.org/10.1007/s10265-019-01085-y>. **IF:2.19**

Poór, P., Z. Takács, **G. Patyi**, P. Borbély, O. Bencsik, A. Szekeres, and I. Tari. 2018. "Dark-Induced Changes in the Activity and the Expression of Tomato Hexokinase Genes Depend on the Leaf Age." *South African Journal of Botany* 118: 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.06.006>. **IF:1.63**

ÖSSZ. IF.:7.4

Folyamatban lévő közlemények

Gábor Patyi, Barbara Hódi, Ivy Mallick, Péter B. Kós, Imre Vass. 2022. Investigation of the singlet oxygen dependence of the *hliB* high light induced gene in *Synechocystis* PCC 6803 cyanobacteria (kézirát előkészületben)

Egyéb szakmai anyagok

1. Péter Borbély, Péter Poór, Judit Kovács, Zoltán Takács, **Gábor Patyi**, Ágnes Szepesi, Irma Tari (2014) Exogenous sodium nitroprusside alleviates salt-induced changes in photosynthesis of tomato leaves. 11th Congress of the Hungarian Society of Plant Biology, Szeged, Hungary
2. Judit Kovács, Péter Poór, **Gábor Patyi**, Péter Borbély, Ágnes Szepesi, Zoltán Takács, Irma Tari (2014) Investigation of salt stress induced changes in cysteine protease activity in abscisic aciddeficient sitiens tomato (*Solanum lycopersicum*) mutant. 11th Congress of the Hungarian Society of Plant Biology, Szeged, Hungary
3. Péter Poór, Ágnes Gallé, Judit Kovács, Zoltán Takács, Péter Borbély, **Gábor Patyi**, Ágnes Szepesi, Irma Tari (2014) Analysis of light dependent cis-regulatory elements of hexokinase genes in tomato (*Solanum lycopersicum*). 11th Congress of the Hungarian Society of Plant Biology, Szeged, Hungary
4. Péter Poór, **Gábor Patyi**, Irma Tari (2015) In Silico Analysis of cis-Regulatory Elements of Hexokinase Genes in Tomato (*Solanum lycopersicum*) JOURNAL OF CURRENT PLANT SCIENCE RESEARCH : 1 1 pp 1-10
5. Poór Péter, Németh Edit, **Patyi Gábor**, Czékus Zalán, Takács Zoltán, Szepesi Ágnes, Tari Irma (2015) Fény és sötét által szabályozott oxidatív robbanás és antioxidáns rendszer szalicilsav kezelt paradicsom levelekben. A Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság VIII. Kongresszusa : Program és előadáskivonatok Budapest, Magyarország
6. Péter Borbély, Péter Poór, **Gábor Patyi**, Irma Tari (2015) Effect of Ethylene Precursor ACC Pre-Treatment on Photosynthesis Under Salt Stress. Plant Abiotic Stress Tolerance III : Programme and Abstracts Wien, Austria
7. Péter Poór, Zoltán Takács, Péter Borbély, Zalán Czékus, **Gábor Patyi**, Irma Tari (2016) Involvement of ethylene in hydrogen-peroxide metabolism in the leaves of salicylic-acid treated tomato. Plant Biology Europe EPSO/FESPB 2016 Congress : Abstracts

8. Péter Poór, Judit Kovács, Ágnes Szepesi, Péter Borbély, **Gábor Patyi**, Zoltán Takács, Irma Tari (2016) Salt stress-induced oxidative stress in ethylene signaling mutant, Never ripe tomato. Joint development of higher education and training programmes in plant biology in support of knowledge-based society, CLOSING CONFERENCE : Book of abstracts Novi Sad, Serbia

9. Péter Poór, Zalán Czékus, **Gábor Patyi**, Péter Borbély, Judit Kovács, Zoltán Takács, Irma Tari (2016) Investigation of Salt Stress-Induced Changes in Water Status, Photosynthetic Parameters and Cysteine Protease Activity in Wild Type and Abscisic Acid-Deficient Sitiens Mutant of Tomato (*Solanum Lycopersicum cv. Rheinland Ruhm*) Plant Model Species: Fundamentals and Applications : Programme and abstracts Wien, Austria

10. **Gábor Patyi**, Ivy Mallick, Imre Vass and Péter Kós (2017) Singlet oxygen sensing in cyanobacteria. Straub Conference at BRC-HAS, Szeged Hungary

11. **Gábor Patyi**, Barbara Hódi, István Zoltán Vass, Imre Vass, Péter Kós (2019) Assessment of intracellular singlet oxygen by GFP fluorescence in *Synechocystis* PCC6803. Straub Conference at BRC-HAS, Szeged Hungary

12. **Gábor Patyi**, Barbara Hódi, István Zoltán Vass, Imre Vass, Péter Kós (2019) Assessment of intracellular singlet oxygen by GFP fluorescence in *Synechocystis* PCC6803. 9th Symposium on Microalgae and Seaweed Products in Plant/Soil-Systems Mosonmagyaróvár, Hungary.

13. Barbara Hódi, István Zoltán Vass, Ivy Mallick, **Gábor Patyi**, Péter B. Kós, Imre Vass (2019) Effect of singlet oxygen on gene expression profile in *Synechocystis* PCC6803. 9th Symposium on Microalgae and Seaweed Products in Plant/Soil-Systems Mosonmagyaróvár, Hungary.

14. Boglárka Bereczky, **Gábor Patyi**, Lilla Futó-Dékány, Krisztián Laczi, Péter B. Kós (2022) Straub Conference at BRC-HAS, Szeged Hungary

15. **Patyi Gábor**, Hódi Barbara, Solymosi Dániel, Vass Imre, Kós Péter (2022) NEHÉZFÉM BIORIPORTEREK ÉRZÉKENYSÉGÉNEK FOKOZÁSA TRANSZPORTER HIÁNYOS *SYNECHOCYSTITIS* PCC6803 CIANOBAKTÉRIUM MUTÁNSOKBAN. Straub napok ELKH-SZBK, Szeged, Magyarország

NYILATKOZAT

Mint az alábbi tudományos közlemények felelős első szerzője, nyilatkozom, hogy a tudományos közleményben foglalt tudományos eredményeket PhD fokozat megszerzéséhez nem használtam fel és azokat ilyen célból a jövőben sem fogom használni. Elismerem, hogy Patyi Gábor az alábbi közlemények eredményeinek elérésében meghatározó fontosságú szereppel bírt, így a közleményeket a doktori eljárás alapjaként felhasználhatja.

Poór, Péter, **Gábor Patyi**, Zoltán Takács, András Szekeres, Nikolett Bódi, Mária Bagyánszki, and Irma Tari. 2019. “Salicylic Acid-Induced ROS Production by Mitochondrial Electron Transport Chain Depends on the Activity of Mitochondrial Hexokinases in Tomato (*Solanum Lycopersicum* L.).” *Journal of Plant Research* 132 (2): 273–83. <https://doi.org/10.1007/s10265-019-01085-y>.

Poór, P., Z. Takács, **G. Patyi**, P. Borbély, O. Bencsik, A. Szekeres, and I. Tari. 2018. “Dark-Induced Changes in the Activity and the Expression of Tomato Hexokinase Genes Depend on the Leaf Age.” *South African Journal of Botany* 118: 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.06.006>.

Szeged, 2022. 08. 25.

Dr. Poór Péter
egyetemi adjunktus
Növénybiológiai Tanszék
SZTE TTIK Biológiai Intézet
6726 Szeged, Közép fasor 52.