

**STRESSZVÁLASZ HALAKBAN: METALLOTHIONEIN ÉS *hsp90*
GÉNEK AZONOSÍTÁSA ÉS EXPRESSZIÓJUK VIZSGÁLATA
PONTYBAN (*Cyprinus carpio*)**

Ph.D. értekezés tézisei

készítette: Hermes Edit

**témavezető: Dr. Ábrahám Magdolna
tanszékvezető egyetemi docens**



**Szegedi Tudományegyetem
Természettudományi Kar
Biokémiai Tanszék**

2002

1. Bevezetés

A nehézfémek környezetünkben való felhalmozódása napjaink egyik égető problémája. A kadmium például a szervezetben felhalmozódva károsítja a májat, a vesét és a tüdőt. Egy felmérés szerint a föld össztlakosságának 7 %-nál jelentkező Cd terhelésre visszavezethető vesekárosodás. A WHO jelentése szerint a kadmium az első nyolc karcinogén ágens között szerepel. Nemcsak a biológiai funkcióval nem rendelkező nehézfémek (pl. Cd, Pb, As, Hg) toxikusak a szervezet számára, de az esszenciális fémek is (pl. Zn, Cu, Fe) mérgezővé válhatnak a fiziológiásnál nagyobb koncentrációban, vagy folyamatos expozíció esetén. Ennek egyik oka, hogy nagy affinitással kötődnek az enzimek szulfhidril- és aminos csoportjaihoz, anionos oldalláncjaihoz, és közvetlenül, vagy a fehérje konformáció megváltoztatásával közvetve, gátolják a fehérjéket aktivitásuk kifejtésében. A nehézfém expozíció, valamint a környezet természetes fizikai és kémiai paramétereinek hirtelen megváltozása egy sor olyan fehérje szintézisét indukálják, melyek védő, szabályozó funkciót látnak el a sejtben. A válaszadás képessége általános tulajdonsága az élő szervezeteknek, a jelenséget stresszválasznak, az indukálódó fehérjéket pedig védőfehérjéknek nevezzük. Ezen fehérjék és az őket kódoló gének családokba sorolhatók, melyek tagjai nyilvánvaló evolúciós rokonságban állnak egymással, egymás között a rendszertanilag nagyon távoli fajokból leirtakat is nagyfokú homológia jellemzi. Elnevezésük vagy az indukciót kiváltó tényező, vagy pedig funkciójuk alapján történik. A szervezet a toxikus fémexpozícióra, mintegy védekező reakcióként, többek között a metallothionein gének indukciójával válaszol.

A metallothionein fehérjék (MT) kis molekulatömegű (6-7 kDa), ciszteinben gazdag (aminosav tartalmuk közel egyharmada cisztein), nagy fémtartalmú (~ 7db/ molekula) polipeptidek. Az MT-ekben valamennyi fém thiolát-ligand formában kötött, 4 cisztein aminosav szulfhidril csoportjához kapcsolódik egy-egy fématom, tetrahedrális geometriát kialakítva. Nagy fémkötő kapacitásuk valamint a kötések jellege azt sugallja, hogy központi szerepük van az esszenciális cink- és rézionok homeosztázisának fenntartásában és a mérgező nehézfémek detoxifikálásában. Feltételezhetően részt vesznek még a szabadgyökökkel és alkiláló ágensekkel szembeni védekezésben, a kén metabolizmusában, továbbá az intracelluláris redoxpotenciál kontrolljában. Az MT-ek általános jelenléte a sejtekben, valamint, hogy géncsaládokat alkotnak, hogy expressziójuk szigorú időbeni és szövetspecifikus szabályozottságot mutat, és hogy a gerincés MT-ek elsődleges szerkezetét

igen nagyfokú konzerváltság jellemzi, mind arra utal, hogy jelenlétük létfontosságú a szervezet zavartalan működése szempontjából.

Valamennyi ismert MT strukturgén 3 exont és két intront tartalmaz. Expressziójuk elsősorban transzkripcionális szinten szabályozódik, pl. az intracelluláris fémkoncentráció növekedése, fizikai stresszhatások, és bizonyos hormonok szintjének emelkedése indukálja az MT mRNS szintézisét. Az MT gének alapexpressziójához és fémek által történő indukciójához szükséges szabályozó fehérje az MRF (*metal responsive factor*), mely kötődik a valamennyi ismert MT promóter régióban előforduló MRE szekvenciához (*metal responsive element*), és biztosítja a sejt adott metabolikus állapotára jellemző MT expressziót. A metallothionein szint emelkedése például az embrionális fejlődés vagy a nehézfémterhelést követően azt a celluláris válaszreakciót tükrözi, amelynek során a fémek (esszenciális illetve toxikus nehézfémek) a thionein típusú fehérjékhez kapcsolódva fém-*pool*-okat képeznek. Ezek a fémraktárak kielégíthetik az intenzív sejtosztódáshoz, szöveti differenciálódáshoz nélkülözhetetlen metalloproteinek fokozott fémigényét, illetve biztosíthatják a toxikus fémek esetében a szervezetből való, fém-MT formában történő kiürítést. E folyamatok a sejt homeosztatis állapotának fenntartását szolgálják.

Régi megfigyelés az, hogy a sejtek hirtelen hőmérsékletváltozás hatására jellegzetes fehérjemolekulák szintézisével válaszolnak. A jelenséget hősokk válasznak, a fehérjéket pedig hősokk, vagy stressz fehérjéknek nevezték el. A folyamat összetettségére jellemző, hogy ezen fehérjéknek a szintézise nemcsak hőmérsékletváltozással, hanem más stresszhatásokkal is indukálható (pl. nehézfémek, fertőzések, xenobiotikus metabolitok stb.). Feltételezhető, hogy minden olyan, a fiziológiástól eltérő jelenség, mely a fehérjék denaturációjához vagy rendellenes térszerkezetű fehérjék kialakulásához vezet, stresszválaszt indukál. A hősokk fehérjék elősegítik a denaturált fehérjék felismerését, natív szerkezetük helyreállítását vagy eltávolításukat a traumatizált sejtéből. A stresszfehérjék kiemelkedő fontosságára utal az a tény is, hogy jelenlétük nem csupán a fiziológiástól eltérő körülmények között jelenthet védelmet, hanem alapvető életfunkciók ellátásához is nélkülözhetetlenek a sejtek számára, például segíthetik a protein komplexek összerakását, illetve szétszerelését normál körülmények között is. A hősokk fehérjék legáltalánosabb besorolása a molekulatömegük alapján történik, így megkülönböztetjük a Hsp100, Hsp90, Hsp70, Hsp60, és a kis molekulatömegű Hsp-k családjába tartozó fehérjéket.

A *hsp90* családba tartozó gént, géneket széles körben izoláltak már a baktériumoktól kezdve az emberig. Míg egyes fajokban, mint például az *Escherichia coli* és a *Drosophila*, a családnak csak egy tagja ismert, addig számos gerincesből (*zebrafish*, csirke, sertés, egér, ember) két izoformát, a Hsp90 α -t és Hsp90 β -t, azonosítottak. A két izoforma (paralógok) nagy hasonlóságot mutat egy adott fajon belül, azonban ha a különböző fajok azonos izoformáit (ortológok) hasonlítjuk össze, még nagyobb azonosságot tapasztalunk. A két izoforma valószínűleg egy génduplikáció eredményeként jött létre, úgy 500 millió évvel ezelőtt. A két gént jellemző nagyfokú szekvenciahomológia ellenére a szabályozó mechanizmusuk valószínűleg jelentősen eltér; expressziós mintázatuk karakterisztikus az embriónális fejlődés különböző szakaszaiban, a sejtdifferenciálódás során és stressz helyzetekben. A *hsp90 β* többnyire konstitutívan expresszálódik, és stressz hatására kevésbé indukálódik, míg a *hsp90 α* , bár jelen van normál körülmények között is a sejtben, különböző stresszorok hatására jelentős mértékben indukálódik. Az evolúció során a két gén funkcionálisan nagymértékben divergálódott; míg élesztőben például a két fehérje bármelyike képes a másik hiányát kompenzálni addig, gerincesekben erre már nincs lehetőség.

A Hsp90 fehérjéket sokféle kötőfelszín jellemzi, az ebből következő változatos fehérje/fehérje kölcsönhatások több celluláris folyamatban való részvételét feltételezi. Néhány lehetséges szerepüket kiemelve: a Hsp90 molekulák képesek megakadályozni számos, a megfelelő harmadlagos szerkezetét még fel nem vett, illetve abban károsodott fehérje aggregációját, azonban a Hsp90 önmagában nem elég a részlegesen denaturált fehérjék megfelelő térszerkezetének helyreállításához. Jelenléte nélkülözhetetlen jó néhány - ha nem valamennyi - kináz érési folyamatához, továbbá a Hsp90-chaperone komplex stabilizálja azt a szteroid receptor struktúrát, melyhez a hormon nagy affinitással képes kötődni. A hormon receptorok mellett a Hsp90 kötődik más transzkripciós faktorokhoz is, a citoplazmában formálódó stresszfehérje-transzkripciós faktor komplexek jelenléte utalhat arra, hogy a Hsp90 része ezen DNS kötő fehérjék érési folyamatának is.

2. Célkitűzés

Munkánk során olyan gének, géncsaládok azonosítását és expressziójának vizsgálatát tűztük ki célul, melyek jelentős szerepet játszanak az élőlények környezeti stresszel szembeni védekezésben. A dolgozatban két, a stressz-válaszadásban bizonyítottan résztvevő géncsalád, a metallothioneinek és a *hsp90* vizsgálatát foglaljuk össze: Célunk volt mind a két családból

lehetőleg több izoforma azonosítása. Ennek sikere esetén terveztük az izoformákat kódoló gének expressziójának vizsgálatát kezeletlen halak, illetve különböző toxicitású nehézfém kezelések, és hirtelen hőmérsékletváltozásnak kitett állatok szerveiben. A fémek közül vizsgálni kívántuk a Cd, mint az egyik legtoxikusabb nehézfém, a Cu, mint esszenciális, de nagy koncentrációban toxikus fém, és az As, mint az említettek közül azonos koncentrációban a legkevésbé toxikus nehézfém hatását. Az azonosított gének expresszióját elsősorban májban és vesében, a detoxifikáció két központi szervében kívántuk követni. Terveztük továbbá különböző kezelések hatásának vizsgálatát az agyban, illetve különböző agyrégiókban: pl. a *cerebellum*-ban, melynek védelmében kiemelkedő védő funkciót láthat el a vér-agy gát, és az *olfactory* lebenyben, az egyetlen olyan agyterületen, ahol ez a védő funkció nem érvényesül.

3. Az alkalmazott módszerek rövid összefoglalása

Kísérleti állatok és kezelési körülmények

Valamennyi, a dolgozatban leírt kísérlet ponttyal (*Cyprinus carpio*) végeztük el. A halakat a Tiszai Halgazdaság Fehértói Telepéről szereztük be 1997 januárja és 2001 decembere között. A kezeléseik előtt 400 l-es jól levegőztetett kádakban akklimatizáltuk az állatokat, 12-15°C-on, 2-3 hét időtartamig. A kezelésekhöz a halakat 100 l-es akváriumokba helyeztük át (mérettől függően 2-3 hal/akvárium, 0.5-1 kg egyedi súly), a vízhőmérséklet a hő és hidegsokk kivételével szintén 12-15°C volt.

A kísérleti állatokat Cd-al, Cu-el és As-al kezeltük, a fémionra normalizált végkoncentráció minden esetben 1 és 10 mg/l volt, kivéve a Cd-al történő intraperitoneális kezelést, ahol 10 mg/testsúly kg dózist alkalmaztunk.

A hő sokk hatásának vizsgálatához a halakat az akklimatizációs hőmérséklettől 14°C-al magasabb hőmérsékletű közegbe helyeztük, mintát közvetlenül a hőkezelés után, illetve az akklimatizációs hőmérsékletre történő visszahelyezést követően 1 óra múlva (*recovery*) vettünk.

A hidegsokkhoz a halakat 5°C-os vízhőmérsékletű akváriumba helyeztük át. Mintavétel közvetlenül a hidegsokk, illetve változó időtartamú *recovery* periódus után történt.

Minden kísérletet legalább két időpontban (az egymást követő évek közel azonos időszakában) megismételtünk, a kezeléseik minden mintavételi pontjában három vagy négy egyedet használtunk fel a mérésekhez. Az izolált szövetmintákat azonnal folyékony nitrogénbe helyeztük, és -80°C-on tároltuk a felhasználásig.

Nukleinsav technikák

A munka során a molekuláris biológia standard módszereit használtuk

- Genomiális és plazmid DNS tisztítás
- Össz-RNS preparálás
- DNS emésztése restrikciós enzimekkel
- Restrikciós fragmentek és PCR termékek szeparálása agaróz gélelektroforézissel
- Klónozás plazmid vektorokba
- DNS szekvencia meghatározása
- PCR, RT-PCR
- DNS próba radioaktív jelölése
- Northern hibridizálás
- Kettős és többszörös szekvencia összehasonlítás, analízis

Kadmium és cink tartalom meghatározása

A szárított, $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ kezelt mintákat homogenizálást követően Hitachi Z8200 Zeeman polarizált atomabszorpciós spektrofotométerrel analizálták (SzBK, Növényi Biokémia), koncentrációtól függően acetilén-levegő láng, vagy grafitkályhás (elektrotermikus) atomizálással.

Géldokumentáció, denzitometráls

Az ethidium bromiddal festett géleket, és az autoradiogramokat egy GDS 7500 (UVP) rendszert használva dokumentáltuk, és a *GelBase/GelBlot™ Pro Gel analysis* szoftver segítségével analizáltuk.

4. Eredmények és megbeszélés

Általános megközelítés:

A metallothionein és a HSP90 fehérjéket igen nagy fokú szekvencia-konzerváltság jellemzi. Első lépésben különböző fajok (ember, patkány, csirke, béka, hal) ismert MT és *hsp90* szekvenciáinak összehasonlításával evolúciósan konzervált régiókat azonosítottunk, és ezek felhasználásával PCR primereket terveztünk. A primer-pozíciók kiválasztásánál mind a két család esetén ügyeltünk arra, hogy a primer párok által közrefogott szakaszon a különböző izoformák kellő különbséget mutassanak, így, ha azok jelen vannak pontyban is, megkülönböztethetők legyenek. Az ily módon szelektált és szintetizált oligonukleotidokat

használtuk fel RT-PCR reakciókban a ponty MT és *hsp90* génekről szintetizálódott mRNS-ek egy-egy szegmensének amplifikálásához. Az amplifikált termékek ellenőrzését, izolálását és klónozását szekvenálás és a szekvenciák analízise követte. Mind a két családból két-két, egymáshoz nagymértékben hasonló, de egyértelműen megkülönböztethető gént sikerült azonosítanunk.

Úgy az MT, mint a *hsp90* gének kifejeződését a róluk szintetizálódott mRNS kimutatásával követtük, módszerként Northern hibridizációt és/vagy egy reverz transzkripciót követő polimeráz láncreakciót használva. Az azonosított szekvencia-különbségek lehetőségét biztosítottak az egyes génekre *specifikus* primerek tervezéséhez, illetve a klónozott cDNS szegmensek alkalmasak voltak arra, hogy hibridizációs próbaként használjuk őket. Vizsgáltuk a gének alapexpresszióját különböző szervezetekben, valamint az expressziójukban bekövetkező változásokat fémkezelések, illetve hő és hidegsokk hatására.

A szakirodalomban, úgy az MT, mint a *hsp90* génekre nézve viszonylag kevés a halakon végzett *in vivo* kísérlet. Ugyancsak kevés fajban történt meg a két izoformát kódoló gének azonosítása illetve azok génspecifikus expressziójának vizsgálata. Kísérleteinket *in vivo*, kifejlett állatokkal végeztük, így az eredmények valószínűleg jól közelítik a valós ökoszisztémákban bekövetkező változások hatásait.

A metallothionein gének:

RT-PCR-al két MT cDNS-t amplifikáltunk pontyból. Izoláltuk továbbá a két cDNS-t kódoló struktúrgéneket, és a kódoló régiótól 5' irányba eső szakaszokat is. A MT-1 cDNS szekvenciája azonos a tőlünk függetlenül, a jelen munka során közölt MT-1 cDNS szekvenciával. A két gén intron-szekvenciái azonban komoly eltérést mutatnak, ami egyértelművé teszi, hogy nem azonosak egymással, annak ellenére, hogy azonos fehérjét kódolnak. Az általunk MT-2-nek nevezett gén újdonságnak számít, az általa kódolt fehérje aminosav összetétele jelentősen különbözik bármilyen, halakból eddig leírt MT izoformától.

A két gén alapexpressziója jellegzetes szövetspecifitást mutat: az MT-1 mRNS az agyban, májban, vesében és az izomban közel azonos mennyiségben van jelen, míg az MT-2 mRNS a szívben és az agyban mutatható ki nagyobb mennyiségben. A vizsgált szervek között nemcsak a két MT gén alapexpressziójában, hanem azok indukálhatóságában is jelentős különbséget találtunk, az alkalmazott stresszorok (fémkezelések, hirtelen hőmérsékletváltozás) szövet és gén-specifikus változásokat indukáltak. Egy adott fémre, adott

koncentrációnál a legmagasabb indukciós szinteket mindig májban mértük, vesében azonos expozíciónál, fémtől függetlenül, mind az MT-1, mind az MT-2 indukciója csak 50-75%-a volt a májban mért értéknek.

A szövet-specifikus változások mellett fémkezelések hatására a két gén expressziójában fémtől és koncentrációtól függő, génspecifikus, tranzienst indukciót detektáltunk. Az MT-2 gén mindegyik fémkezelés során, májban és vesében is jobban indukálódik, mint az MT-1. A három fém közül a Cd bizonyult a leghatékonyabb inductornak már 1 mg/l koncentrációban is jelentősen növelte mind a két MT gén expresszióját a májban és vesében. Az MT-1 gén már 1 mg/l koncentrációnál közel került az indukálhatósága felső határához, hiszen tízszer nagyobb fémkoncentráció is csak egy mérsékelt, 5-20 %-os további növekedést eredményezett mindkét szervben. Ugyanakkor azonos fémkoncentráció emelkedés hatására az MT-2 gén expressziója továbbra is dinamikusan változott, és közel duplája volt az alacsonyabb koncentrációnál mért értéknek.

A Cu gyengébb MT-2 inductornak bizonyult mint a Cd, még 10 mg/l koncentrációban is, az indukció foka májban csak fele, vesében pedig harmada volt a hasonló koncentrációban alkalmazott Cd által elértnek. Ugyanakkor az MT-1 gént a Cd-hoz hasonló hatékonysággal indukálta mindkét szövetben.

Az arzén hatása úgy az MT-2 mint az MT-1 gének expressziójára májban és vesében a leggyengébb volt a vizsgált fémek közül. Ugyanakkor, az agyban viszonylag mérsékeltén ugyan (1.8-2-szeres növekedés), de egyetlenként fokozta mindkét MT gén transzkripcióját.

A fizikai stresszorok közül a halak környezetének hirtelen hőmérséklet változását vizsgáltuk az MT gének expressziójára. A víz hőmérséklet emelése nem okozott mérhető változást egyik MT mRNS mennyiségében sem. A víz hőmérsékletének hirtelen csökkenése ezzel szemben jelentős változást eredményezett, ami szövet- és izoforma-specifikusan jelentkezett. Májban, az egy órás hidegsokkot követően a Cd kezeléssel összevethető növekedést mértünk mindkét mRNS mennyiségében, míg az öt órás inkubáció elteltével már nem volt jelentős változás a kezelt halak MT mRNS szintjéhez képest. A különböző agyterületekről vett mintákban nem, vagy jóval moderáltabb növekedést észleltünk az 1 órás kezelést követő *recovery* időszakban, viszont 5 óra elteltével a kontrollhoz képest drasztikus csökkenés jellemezte az MT mRNS mennyiségét. Ahogy a fémkezeléseknél, itt is különbség mutatkozott az MT-1 és MT-2 gének szabályozásában, azonban a hidegsokk inkább az MT-1 gén expresszióját befolyásolta.

A *hsp90* gének:

Két, leginkább a *Danio rerio hsp90 α* és *hsp90 β* génjével homológ *hsp90* gént azonosítottunk pontyban. Ebben a fajban mindkettő újdonság, és a zebradánió mellett a második példa arra, hogy halakban is létezik a két izoforma. Vizsgáltuk a két gén alapexpresszióját májban, vesében és agyban. A *hsp90 β* nem induktív körülmények között viszonylag magas szinten expresszálódik minden vizsgált szövetben, az mRNS mennyisége összemérhető a β -aktin mRNS mennyiségével. A *hsp90 α* ezzel szemben a vizsgált szervben közel százszor alacsonyabb alapexpresszióval rendelkezik, kivéve az agyat, ahol a többi szervhez képest közel tízszer magasabb szinten nyilvánul meg. Megvizsgáltuk a két *hsp* gén indukciós tulajdonságait is hő- és hidegsokk, valamint Cd kezelés hatására. A *hsp90 β* a vizsgált szervekben kevésbé reagált a hőkezelésre, szövettől függetlenül egy mérsékelt, 1.5-2-szeres indukciót figyeltünk meg. A *hsp90 α* viszont szövetspecifikusan reagált a hősokkra: agyban 10-14-szeres, míg vesében és májban csak 2-3-szoros indukciót detektáltunk. Az agyban mért magas alapszint és az erős indukálhatóság arra utalhat, hogy a *hsp90 α* ebben a szervben specifikus funkciót láthat el. A hidegsokk szintén indukálta a *hsp90 α* expressziót, de kisebb különbséggel az egyes szervek között: agyban 3-4 szeres, májban 4-4.5-szeres indukciót mértünk. A maximális indukciót már közvetlenül a hidegsokk után is mérni tudtuk, az ezt követő 1 óra *recovery* periódus nem növelte lényegesen az expressziós szintet.

A *hsp90 α* expresszió vesében és májban meglepően érzéketlennek bizonyult a hősokkal szemben. Ezért megvizsgáltuk a gén indukálhatóságát Cd-al is, ami ismert, általános fehérjekárosodást okozó ágens. 10 mg/l koncentrációnál a vesében erős, legalább 20-25-szörös, tranzien *hsp90 α* indukciót detektáltunk, míg a májban még ennél a koncentrációnál sem észleltünk expresszió növekedést. A tranzien indukció arra utal, hogy a gén fiziológiás körülmények között is indukálható a vesében, azt azonban nem gondoljuk, hogy ennek a Cd lenne a specifikus indukálószer. Valószínűleg létezik egy eddig még nem azonosított fiziológiás, vagy a környezetből eredő szignál, amelyre a *hsp90 α* ilyen mértékű reakciója kifejlődött az evolúció során, és a Cd történetesen "modellezte" ezt a fiziológiás jelet. A májban csak 10 mg/kg intraperitoneális Cd kezelés hatására nőtt meg a *hsp90 α* expresszió, a kísérlet végpontjában minimum 200-szoros expresszió növekedés volt mérhető.

5. Publikációjegyzék

A dolgozathoz kapcsolódó közlemények:

Hermesz, E., Ábrahám, M., Nemcsók, J.: Changes in tissue specific expression of two metallothionein genes in common carp during waterborne cadmium exposure and temperature shock. *Comparative Biochem. and Physiol. Part C*, 128/3: 457-465, 2001. IF₂₀₀₀ 1.249

Hermesz, E., Abraham, M., Nemcsók, J.: Identification of two hsp90 genes in carp. *Comparative Biochem. and Physiol. Part C*, 129/4: 397-407, 2001. IF₂₀₀₀ 1.249

Hermesz, E., Gazdag, P. A., K. Said Ali, Nemcsók, J., Ábrahám, M.: Differential regulation of the two metallothionein genes in common carp. *Acta Biologica Hungarica* Közlésre elfogadva, IF₂₀₀₀ 0.291

Poszterek, előadások, magyaryelvű közlemények:

Ábrahám Magdolna, Hermesz Edit, Szegletes Tivadar, Nemcsók János: Molecular stress response in fish. Environmental Biochemistry of Heavy Metals, Nyíregyháza, Január, 1997.

E. Hermesz, János Nemcsók and Ábrahám Magdolna: Identification of an HSP70-like Gene in Carp. Stress of Life International Congress of Stress, Budapest, 1997.

Ábrahám M., Hermesz E., Deér A. Nemcsók J.: Molecular defense systems in fish. Stress of Life International Congress of Stress, Budapest, 1997.

Ábrahám M., Banka L., Deér A., Hermesz E., Juhász M., Kotormán M., Krizsik A., Nemcsók J.: Novel Methods of Biochemistry of Water Pollution in Lake Balaton. Conference on Lakes Conservation and management. Lacar, Argentina, 1997.

Hermesz E., Nemcsók J., Ábrahám M.: Stress response in fish. III International congress of Pathophysiology, Lahti, 1998.

Ábrahám M., Hermesz E., Banka L., Deér A., Nemcsók J.: Fish toxicology from molecular point of view. Secotox meeting, Antalya, Törökország, 1998.

M. Ábrahám, E. Hermesz, A. Deér, L. Banka, J. Nemcsók: A nehézfém stressz és stresszválasz pontyban. *Biokémia*, 23: 34-37 1999.

Edit Hermesz, Khaled Said Ali, Magdolna Ábrahám: Identification of two hsp90 genes in carp. MESAEP & SECOTOX 11 th International Symposium, Limassol, Cyprus, 2001.

A dolgozathoz közvetlenül nem kapcsolódó közlemények

Árányi, P., Hermesz, E., Venetainer, A.: Hydrogen bond structure in the glucocorticoid agonist-receptor complex. *Biochem. Pharmacology*, 34: 2040-2042, 1985. IF₂₀₀₀ 2.975

Olasz, F., Dorgai, L., Papp, P., **Hermesz, E.**, Kosa, E., Orosz, L.: On the site specific recombination of page 16-3 of *Rhizobium meliloti*: identification of genetic elements and recombination.

Mol.Gen.Genet., 201: 289-295, 1985.

IF₂₀₀₀ 2.462

Venetainer, A., Poliard, A., Poliard, M., **Hermesz, E.**, Salatreat, J.M.: Activation of alpha-fetoprotein synthesis in rat hepatoma cells with reduced sensitivity to dexamethasone.

Differentiation, 32: 148-156, 1986.

IF₂₀₀₀ 2.353

Hermesz, E., Olasz, F., Dorgai, L., Orosz, L.: Stable incorporation of genetic material into the chromosome of *Rhizobium meliloti* 41: construction of an integrative vector system.

Gene, 119: 9-15, 1992.

IF₂₀₀₀ 2.460

Hermesz, E., Mackem, S., Mahon, K.A.: RPX: A novel anterior-restricted homeobox gene progressively activated in the prechordal plate, anterior neural plate, and Rathke's pouch of the mouse embryo. *Development*, 122: 41-52, 1996.

IF₂₀₀₀ 9.350

Zhao, Y., **Hermesz, E.**, Yarolin, M., Westphal H.: Genomic structure, chromosomal localization and expression of the human LIM-homeobox gene LHX5.

Gene, 260: 95-101, 2000.

IF₂₀₀₀ 2.460

Össz IF: 24.849

Független idézettség: 148

Társszerzői lemondó nyilatkozat

Alulírott nyilatkozom, hogy a Jelölt téziseit ismerem, a tézisekben foglalt tudományos eredményeket tudományos fokozat megszerzéséhez nem használtam fel, s tudomásul veszem, hogy azokat ilyen célból a jövőben sem használhatom fel.

Dátum Szeged, 2002 márc. 05

Abraham Magdolna

Abraham István

Dr. Németh János

Németh János

PINTERNE GAZDAG ANETT

Pinterne Gazdag Anett

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....