

**A fitokrómok N-terminális régiójának
szerepe a vörös és távoli vörös
fény érzékelésében**

A doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

Bindics János

Témavezető: Dr. Nagy Ferenc

Magyar Tudományos Akadémia
Szegedi Biológiai Központ
Növénybiológiai Intézet
Foto- és Kronobiológiai Csoport

Szegedi Tudományegyetem
Biológia Doktori Iskola

Szeged

2014

Bevezetés

A növények helyhez kötött, fotoautotróf élőlények. A fény életükben két szempontból játszik kiemelkedő szerepet: **i)** életfolyamataiknak energiaforrása, **ii)** valamint irányítja fényfüggő fejlődési folyamataikat a környezetről hordozott információn keresztül. Ennek az információnak a kiaknázhatóságát a növényi evolúció során létrejött fotoreceptor családok teszik lehetővé, melyek érzékelik a növényeket érő fény különböző hullámhossz-tartományainak (színeitnek) meglétét, hiányát, periódikus változását. Az *UVR8* az UV-B, a kriptokrómok és a fototropinok a az UV-A és kék, míg a fitokrómok (*PHY*) a vörös (650-700 nm) és távoli vörös (700-750 nm) tartományait érzékelik a földfelszínt érő napsugárzásnak (Rizzini és mtsai. 2011; Lin & Shalitin 2003; Liscum és mtsai. 2003; Chen & Chory 2011). A fitokrómok kiemelkedő szerepét jelzi, hogy minden fotoszintetizáló élőlényben megtalálhatóak a cianobaktériumoktól egészen a kétszikűekig (Yeh és mtsai. 1997; Yeh & Lagarias 1998). A növényi fitokrómok kb. 120 kDa molömegű fehérjék, melyek egy kb 70 kDa molömegű N-terminális és egy kb 55 kDa C-terminális doménre tagolhatunk. A N-terminális a fényjel felfogásában és továbbításában játszik szerepet, valamint ide kötődik egy konzervált cisztein oldalláncához a fitokromobilin kromofór (Li & Lagarias 1992). A fitokrómok két spektrális tulajdonságaiban eltérő konformációban léteznek (Schafer & Bowler 2002). Sötétben szintetizálódott fitokróm fehérje P_r formában van, melynek abszorpciós maximuma vörös fény (red - r) tartományba esik és biológiailag ez az inaktív forma. Vörös fény hatására először a kromofór, majd az azt követő fehérje konformációja változik meg, és létrejön a biológiailag aktív P_{fr} forma, melynek abszorpciós maximuma távoli vörös fény tartományba esik (far red - fr) (Schafer & Bowler 2002). A két forma átfedő abszorpciós spektrumainak köszönhetően a P_r és P_{fr} forma között a fény spektrális összetételétől függően egy $P_r \rightleftharpoons P_{fr}$ egyensúlyi állapot jön létre. A C-terminális domén a fitokrómok dimerizációjában játszik szerepet, mely a fitokrómok működésének szempontjából esszenciális (Matsushita és mtsai. 2003). *Arabidopsis thaliana* (lúdfű) modellnövényben a fitokrómok egy kis, öt tagú géncsaládot alkotnak, melyeket A-E-ig betűkkel különböztetünk meg (*PHYTOCHROME A – E*, röviden *PHYA – PHYE*) (Sharrock & Quail 1989). A géncsalád két legfontosabb tagja a *PHYA* és a *PHB* fehérjék, melyek domináns szerepet játszanak lúdfű életfolyamatainak irányításában. Bár a *PHYA* és a *PHYB*

fehérjék nagyfokú homológiát mutatnak, szerepük és jelátvitelük szabályozásában nagy különbségek vannak. A PHYA úgynevezett I-es típusu fitokróm, mely a csírázás után sötétben (pl. föld alatt) fejlődő növény domináns fotoreceptora (Sharrock & Clack 2002). A fényaktiváció beindítja a PHYA fehérjére gyors sejtmagi importját és ezzel párhuzamosan megindul a P_{fr} PHYA gyors degradációja, mely utóbbi folyamat a fényérzékelés folyamatosságát biztosítja (Sharrock & Clack 2002). A földfelszín elérve a nagy fényintenzitás következtében a PHYA degradációja oly mértékben felgyorsul, hogy a domináns fotoreceptor szerepét a PHYB veszi át (Sharrock & Clack 2002). A PHYB fénystabil II-es típusú fitokróm, így az aktív PHYB P_{fr} molekulák inaktivációja a sötétreverzióknak nevezett folyamaton keresztül valósul meg. Ez a folyamat fénykörülményektől függetlenül zajlik és az aktív molekulák spontán visszaalakulását jelenti inaktív P_r formába (Eichenberg és mtsai. 2000).

A fitokróm jelátvitel elemeit reverz genetikai módszerekkel azonosították az elmúlt 2 évtized során. Ezek az elemek alapvetően két kategóriába sorolhatók: melyeknek funkcióvesztése folyamatos fényben fejlődő növekedési programot eredményez és amelyeknek elvesztése a fitokrómok közvetítette jelátvitel sérüléséhez, vagy csökkenéséhez vezet. Ezekből az elemekből összeállítható a fitokróm jelátvitel mai modellje. Sötétben növő csíranövényekben a PIF (PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR) transzkripciófaktorok halmozódnak fel melyek beindítják sötétben fejlődő növényekre jellemző fejlődési programot (hipokotil megnyúlás, zárt sziklevek) (Ni és mtsai. 1998; Shin és mtsai. 2009). Ezzel párhuzamosan a COP1 (CONSTITUTIVE PHOTPMORPHOGENIC 1) E3 ubiquitin ligáz folyamatosan aktív és ubiquitinációjukon keresztül előidézi a HY5 (ELONGATED HYPOCOTYL 5) és a HYH (HY5 HOMOLOG) transzkripciófaktorok degradációját (Sullivan és mtsai. 2003). A fitokrómok fényaktivációjukat követően kölcsönhatnak a PIF transzkripciófaktorokkal és a COP1 E3 ligáz komplexekkel. Ennek következtében a PIF-ek elbomlanak (Al-Sady és mtsai. 2006), míg a COP1 komplexeknek megváltozik a szubsztrátspecifitása ami a HY5 és a HYH transzkripciófaktorok stabilizációjához vezet (Holm és mtsai. 2002; Osterlund és mtsai. 2000). Ezek a transzkripciófaktorok aztán beindítják a fényben fejlődő növényekre jellemző fejlődési programot (kinyílt sziklevek, zöldölés, valódi levelek növekedése).

Célkitűzések

E munka célja a PHYA és PHYB fehérjék közvetítette jelátviteli folyamatokban az említett molekulák N-terminálisán elhelyezkedő növény-specifikus NTE régió szerepének vizsgálata volt. A fitokrómok kutatásában a fényérzékelésükben sérült mutánsok fiziológiai karakterizálása, a fenotípus hátterében álló gének térképezése, majd működésük molekuláris vizsgálata központi módszerekké váltak. Felmerülő kérdéseinket véletlenszerű és célzott mutagenézissel létrehozott mutáns növények fiziológiai és molekuláris vizsgálatain keresztül választottuk meg, melyeket a következő, doktori munkám során megvalósított pontokban foglalhatunk össze:

- phyA-5 mutáns fiziológiai jellemzése
- A phyA-5 génről kifejeződő PHYA^{Ala30Val} mutáns fehérje sejten belüli dinamikájának feltérképezése.
- a *phyA-5* mutáció okozta fiziológiai jegyek hátterében álló molekuláris mechanizmus megismerése.
- PHYB 86. szerin oldalláncának foszforilált (PHYB^{Ser86Asp}) és defoszforilált (PHYB^{Ser86Ala}) formáit utánzó fehérjét kifejező növények fiziológiai karakterizálása.
- Az említett PHYB verziók sejten belüli dinamikájának feltárása.
- A fiziológiai jegyek és sejten belüli dinamika létrejöttéért felelős molekuláris mechanizmus megismerése.

Módszerek

- Génebészeti módszerek.
- Transzgenikus növényvonalak előállítás.
- Génkifejeződés vizsgálata reverz transzkripció kapcsolt kvantitatív PCR (RT-qPCR) segítségével.
- Növényi fehérjék mennyiségének mérése Western blott módszerrel.
- Fehérjék in vivo foszforilációjának vizsgálata Phos-tag Western blot módszerrel
- Növényi fehérje tisztítása affinitás-kromatográfián keresztül
- Foszfoserin oldalláncok azonosítása MALDI-TOF-MS módszerrel

- Fitokrómok mennyiségének mérése spektroszkópiai úton (aktív P_{fr} és összes P_{tot})
- PHYA degradáció mérése spektroszkópiai úton (P_{tot} csökkenésének mérése időben).
- PHYB inaktivációjának mérése spektroszkópiai úton (P_{fr} csökkenésének mérése időben).
- PHYB, PHYB^{Ser86Asp} és PHYB^{Ser86Ala} differenciál spektrumainak mérése.
- Élesztő kéthibrid módszerrel kölcsönható fehérjék kötési affinitásának mérése.
- A csírázást követő hipokotil megnyúlás gátlásának mérése.
- PHYA akcióspektrumának mérése különböző hullámhosszúságú fénykezelés általi kiváltott hipokotil megnyúlás-gátlásán keresztül.
- PHYB-YFP fúziós fehérje sejtmagi importjának mikroszkópos mérése a sejtmagi fluoreszcencia intenzitásának növekedésén keresztül.

Eredmények

A *phyA-5* allél vizsgálata

- A *phyA-5* allél által kódolt PHYA fehérjevariáns az evolúcióan konzervált Ala30 oldallánc Val szubsztitúcióját hordozza. A PHYA^{Ala30Val} fehérjét kifejező növényvonalak gyenge távoli vörös fényben csökkent fényérzékenységgel rendelkeznek.
- A *phyA-5* mutáció nem befolyásolja a PHYA gén kifejeződését.
- A PHYA^{Ala30Val} fehérje degradációja sérült gyenge távoli vörös fénykezelésnek kitett csíranövényekben, míg intenzív távoli vörös és vörös fénykezelések hatására a vad PHYA fehérjeváltoztaal azonos módon bomlik le.
- PHYA-YFP és PHYA^{Ala30Val}-YFP fehérjéket kifejező transzgenikus növényvonalak mikroszkópos vizsgálata fényt derített a PHYA^{Ala30Val}-YFP csökkent sejtmagi importjára gyenge távoli vörös fénykezelés hatására. Ezzel ellentétben intenzív távoli vörös fénykezelés hatására mindkét forma azonos sejtmagi importot mutatott.

- Élesztő kéthibrid rendszerben megmutattuk, hogy a PHYA^{Ala30Val} fehérjeváltozat csökkent affinitással köti az FHY1 és FHL fehérjéket (melyek a PHYA sejtmagi importjának transzport fehérjei) (Hiltbrunner és mtsai. 2006).
- A PHYA^{Ala30Val}-YFP-NLS (NLS - nuclear localization signal) fehérjét kifejező transzgenikus növényvonalak a vad típusú PHYA-YFP és a PHYA-YFP-NLS fúziós fehérjéket kifejező növényekre megegyező jelátvitelt és PHYA degradációt mutatottak, amivel bizonyítottuk, hogy a *phyA-5* növények fenotípusának oka a mutáció által előidézett Ala30Val aminosavcsere, mely csökkenti a sejtmagi transzport molekulákkal való kölcsönhatást.

A *phyA-5* allél vizsgálatával kapcsolatos eredmények megvitatása

Már régóta ismert volt, hogy különböző fajokból származó PHYA fehérjék teljes aktivitásához az N-terminális NTE domén szükséges. Számos tanulmányban megmutatták, hogy az NTE régióban található szubsztitúciók, vagy deléciók a távoli vörös fényérzékenység csökkenéséhez vezetnek, de a jelenséget nem tudták molekuláris szinten megmagyarázni (Stockhaus és mtsai. 1992; Cherry és mtsai. 1992; Casal és mtsai. 2002; Trupkin és mtsai. 2007).

A *phyA-5* mutáns növények fenotípusa összetett, csak gyenge távoli vörös fénykezelés alatt mutatnak csökkent reakciót, míg intenzív távoli vörös és más hullámhosszúságú fénykezelés esetén a vad típusú növényekkel megegyező reakciót mutatnak. Hogy a jelenség molekuláris magyarázatát feltárjuk, első lépésként megvizsgáltuk a *phyA-5* növényekben a *PHYA* gén kifejeződését, mely nem mutatott eltérést a vad típustól. Következő lépésként gyenge távoli vörös fénykezelés által kiváltott a PHYA^{Ala30Val} fehérje degradációt, valamint sejtmagi importot vizsgáltuk meg. A PHYA^{Ala30Val} degradációja lassabb, míg sejtmagi importja csökkent, mely eredmények a FHY1 és FHL PHYA sejtmagi transzport molekulák szerepére utalt. Ezért élesztő kéthibrid rendszerben megmértük a PHYA és a PHYA^{Ala30Val} fehérjeváltozat affinitását a mindkét transzport molekulához. Ez a kísérlet megmutatt, hogy a PHYA^{Ala30Val} változat csökkent affinitással köti a FHY1 és az FHL fehérjéket, mely magyarázattal szolgál a mutáns növények fenotípusára.

A PHYA fény hatására biológiailag aktív Pfr konformációba kerül. Ezzel két folyamat indul be: a **i)** Pfr forma degradációja, valamint a **ii)** FHY1 és FHL molekulák közvetítette

PHYA Pfr sejtmagi import. A sejtmagba jutó PHYA molekula leválik a transzport fehérjéről, melyek a citoplazmába kerülnek és újabb PHYA Pfr molekulákat juttatnak a sejtmagba. Azonban a sejtmagban is létezik az aktív (P_{fr}) PHYA-nak degradációs mechanizmusa, mely sokkal gyorsabb a citoplazmában zajló degradációnál (Debrieux & Fankhauser 2010). Mivel a PHYA^{Ala30Val} fehérje kisebb affinitással köti a sejtmagi transzportereket, ezért sejtmagi importja sérült, ami magyarázza a csökkent jelátvitelt és a csökkent degradációt gyenge távoli vörös fényben. Intenzív távoli vörös fény hatására azonban nagyobb mennyiségű PHYA Pfr képződik, ami ellensúlyozni képes a csökkent FHY1 és FHL kötődés hatását. Hogy bizonyítsuk, a PHYA^{Ala30Val} fehérje csak a sejtmagi importjában sérült és jelátvitele a vad PHYA-éval megegyezik, létrehoztuk a PHYA^{Ala30Val}-YFP-NLS fehérjét kifejező növényvonalakat, melyek bizonyították, hogy a PHYA^{Ala30Val} fehérje jelátvitele a vad típusal megegyező. Munkánk bizonyította, hogy az NTE régióban található Ala30 aminosav központi eleme annak a fehérjefelszínnek, mely a transzport molekulák (FHY1 és FHL) kötésében szerepet játszik, mely feltehetően a PHYA Pfr forma kialakulásával válik funkcionálissá.

A PHYB Ser86 foszforilációjára kapcsolatos kísérleti eredmények

- Transzgenikus növényekből izolált PHYB-GFP-TAPc fehérje tömegspektrometriás analízise során azonosítottuk a 86. Pozícióban elhelyezkedő foszfoszerin oldalláncot, mely a PHYB NTE régiójában helyezkedik el és evolúciósan konzervált a kétszikűek körében.
- Létrehoztuk a PHYB Ser86 foszforilált (PHYB^{Ser86Asp}) és defoszforilált (PHYB^{Ser86Ala}) állapotát utánozó fehérjevariánsokat kifejező növényvonalakat.
- Megmérve a különböző PHYB változatok vörös fényérzékenységét, fény derült a foszforilált forma (PHYB^{Ser86Asp}) erősen csökkent, míg a defoszforilált forma (PHYB^{Ser86Ala}) erősen megnövekedett fényérzékenységére.
- Megmértük a különböző PHYB variánsok vörös fény indukálta degradációját, és bizonyítottuk, hogy egyik forma sem mutatott számottevő degradációt.
- Megmértük a különböző változatokat kifejező növények sejtmagi importját és sejtmagi komplexképzését. Azonos válasz kiváltásához a PHYB^{Ser86Asp} fehérjét

kifejező növények kisebb, míg a PHYB^{Ser86Ala} fehérjét kifejező növények nagyobb fényérzékenysget igényeltek.

- A PIF3 transzkripció faktor bizonyítottan szerepet játszik a PHYB sejtmagi importjában, így megmértük a különböző PHYB variánsok PIF3 fehérje kötő affinitását élesztő kéthibrid rendszer segítségével. A PHYB^{Ser86Asp} kisebb, míg a PHYB^{Ser86Ala} nagyobb PIF3 kötő kapacitással rendelkezett alacsony intenzitású vörös fénykezelés hatására.
- Megmértük a különböző PHYB variánsok *in vitro* Pfr → Pr fotokonverziós kinetikáját, valamint differenciál spektrumait, melyek nem mutatottak eltérést.
- Megmértük a különböző PHYB variánsok *in vitro* és *in vivo* sötétreverziós kinetikáját. Mindkét kísérleti rendszerben a foszforilált forma (PHYB^{Ser86Asp}) gyorsabb, a nem foszforilált forma lassabb (PHYB^{Ser86Ala}) inaktivációs sebességgel rendelkezett, mint a vad típusú PHYB fehérje

A PHYB Ser86 foszforilációjára kapcsolatos kísérleti eredmények megvitatása

A PHYB fehérje foszforilációját eddig egy tanulmányban vizsgálták *in vitro* rendszerben. Ezen eredmények alapján úgy tűnt, hogy a PHYB vörös és távoli vörös fényben is autofoszfotilálja az NTE régiójába eső aminosav oldalláncok valamelyikét. Azonban ezek az eredmények ezidáig nem nyertek megerősítést *in vivo* rendszerben (Phee és mtsai. 2008).

Munkánk során azonosítottunk a PHYB Ser86 oldalláncát, amely bizonyos körülmények között foszforilált. Miután elkészítettük a PHYB Ser86 foszforilált (PHYB^{Ser86Asp}) és a nem foszforilált (PHYB^{Ser86Ala}) formáit kifejező növényvonalakat, fény derült arra, hogy a Ser86 szubsztitúciói markánsan befolyásolják a PHYB fehérje közvetítette vörös fényérzékelést. Mivel a Ser86 szubsztitúciói nem befolyásolják a PHYB fehérjestabilitását, megvizsgáltuk a PHYB és variánsainak sejtmagi importját. Gyenge vörös fényben a foszforilált (PHYB^{Ser86Asp}) forma csökkent, míg a nem foszforilált forma (PHYB^{Ser86Ala}) megnövekedett sejtmagi importot mutatott a vad típusú PHYB-hez képest. Intenzív vörös fényben azonban mindhárom forma azonos mértékű sejtmagi felhalmozódást mutatott. Mivel a PIF3 az egyetlen fehérje, mely bizonyítottan részt vesz a PHYB sejtmagi importjában, megvizsgáltuk hogyan befolyásolják a Ser86 szubsztitúciói a PHYB PIF3 kötő kapacitását.

Gyenge vörös fényben a foszforilált forma (PHYB^{Ser86Asp}) kisebb, míg a nem foszforilált forma (PHYB^{Ser86Ala}) nagyobb PIF3 kötő kapacitással rendelkezett, mint a vad típusú PHYB. Intenzív vörös fényben azonban a három variáns azonos módon viselkedett. Hogy megvizsgáljuk a Ser 86 szubsztitúcióknak a fényérzékelésre gyakorolt hatását, megmértük a PHYB variánsok *in vitro* differenciál spektrumát és Pfr → Pr fotokonverziós kinetikáját, melyek nem mutattak különbséget, vagyis a 3 forma egyformán érzékeli a fényt és a jeltovábbítás sérült. Ezután megvizsgáltuk a PHYB variánsainak *in vitro* és *in vivo* sötétreverziós kinetikáját. A három forma mindkét kísérleti rendszerben hasonlóan viselkedett: a foszforilált forma (PHYB^{Ser86Asp}) számottevően gyorsabb, míg a defoszforilált forma (PHYB^{Ser86Ala}) számottevően lassabb sötét reverziós sebességgel rendelkezett, mint a vad típusú PHYB.

Az eredményeket összefoglalva úgy tűnik, hogy a Ser 86 foszforilációja nagy valószínűséggel autofoszforiláció, melynek foka meghatározza a sötétreverzió sebességét és ezen keresztül a PHYB rendszer átlagos vörös fényérzékenységét.

Hivatkozott irodalom

- Casal, J.J. ... Vierstra, R.D., 2002. The serine-rich N-terminal domain of oat phytochrome a helps regulate light responses and subnuclear localization of the photoreceptor. *Plant Physiology*, 129(3), pp.1127–1137.
- Chen, M. & Chory, J., 2011. Phytochrome signaling mechanisms and the control of plant development. *Trends in Cell Biology*, 21(11), pp.664–671.
- Cherry, J.R. ... Vierstra, R.D., 1992. Phytochrome requires the 6-kDa N-terminal domain for full biological activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(11), pp.5039–5043.
- Debrieux, D. & Fankhauser, C., 2010. Light-induced degradation of phyA is promoted by transfer of the photoreceptor into the nucleus. *Plant Molecular Biology*, 73(6), pp.687–695.
- Eichenberg, K. ... Schäfer, E., 2000. Variation in dynamics of phytochrome A in Arabidopsis ecotypes and mutants. *Plant, Cell & Environment*, 23(3), pp.311–319.
- Hiltbrunner, A. ... Schäfer, E., 2006. FHY1 and FHL act together to mediate nuclear accumulation of the phytochrome A photoreceptor. *Plant & Cell Physiology*, 47(8), pp.1023–1034.

- Holm, M. ... Deng, X.-W., 2002. Two interacting bZIP proteins are direct targets of COP1-mediated control of light-dependent gene expression in Arabidopsis. *Genes & Development*, 16(10), pp.1247–1259.
- Li, L. & Lagarias, J.C., 1992. Phytochrome assembly. Defining chromophore structural requirements for covalent attachment and photoreversibility. *The Journal of Biological Chemistry*, 267(27), pp.19204–19210.
- Lin, C. & Shalitin, D., 2003. Cryptochrome structure and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*, 54, pp.469–496.
- Liscum, E., Hodgson, D.W. & Campbell, T.J., 2003. Blue light signaling through the cryptochromes and phototropins. So that's what the blues is all about. *Plant Physiology*, 133(4), pp.1429–1436.
- Matsushita, T., Mochizuki, N. & Nagatani, A., 2003. Dimers of the N-terminal domain of phytochrome B are functional in the nucleus. *Nature*, 424(6948), pp.571–574.
- Ni, M., Tepperman, J.M. & Quail, P.H., 1998. PIF3, a phytochrome-interacting factor necessary for normal photoinduced signal transduction, is a novel basic helix-loop-helix protein. *Cell*, 95(5), pp.657–667.
- Osterlund, M.T. ... Deng, X.W., 2000. Targeted destabilization of HY5 during light-regulated development of Arabidopsis. *Nature*, 405(6785), pp.462–466.
- Phee, B.-K. ... Hahn, T.-R., 2008. A novel protein phosphatase indirectly regulates phytochrome-interacting factor 3 via phytochrome. *The Biochemical Journal*, 415(2), pp.247–255.
- Rizzini, L. ... Ulm, R., 2011. Perception of UV-B by the Arabidopsis UVR8 protein. *Science*, 332(6025), pp.103–106.
- Al-Sady, B. ... Quail, P.H., 2006. Photoactivated phytochrome induces rapid PIF3 phosphorylation prior to proteasome-mediated degradation. *Molecular Cell*, 23(3), pp.439–446.
- Schafer, E. & Bowler, C., 2002. Phytochrome-mediated photoperception and signal transduction in higher plants. *EMBO Reports*, 3(11), pp.1042–1048.
- Sharrock, R.A. & Clack, T., 2002. Patterns of expression and normalized levels of the five Arabidopsis phytochromes. *Plant Physiology*, 130(1), pp.442–456.
- Sharrock, R.A. & Quail, P.H., 1989. Novel phytochrome sequences in Arabidopsis thaliana: structure, evolution, and differential expression of a plant regulatory photoreceptor family. *Genes & Development*, 3(11), pp.1745–1757.

- Shin, J. ... Choi, G., 2009. Phytochromes promote seedling light responses by inhibiting four negatively-acting phytochrome-interacting factors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(18), pp.7660–7665.
- Stockhaus, J. ... Chua, N.H., 1992. Serine-to-alanine substitutions at the amino-terminal region of phytochrome A result in an increase in biological activity. *Genes & Development*, 6(12A), pp.2364–2372.
- Sullivan, J.A., Shirasu, K. & Deng, X.W., 2003. The diverse roles of ubiquitin and the 26S proteasome in the life of plants. *Nature Reviews. Genetics*, 4(12), pp.948–958.
- Trupkin, S.A. ... Casal, J.J., 2007. The serine-rich N-terminal region of Arabidopsis phytochrome A is required for protein stability. *Plant Molecular Biology*, 63(5), pp.669–678.
- Yeh, K.C. ... Lagarias, J.C., 1997. A cyanobacterial phytochrome two-component light sensory system. *Science*, 277(5331), pp.1505–1508.
- Yeh, K.C. & Lagarias, J.C., 1998. Eukaryotic phytochromes: light-regulated serine/threonine protein kinases with histidine kinase ancestry. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(23), pp.13976–13981.

Társszerzői nyilatkozat

Alulírott felelős szerzők nyilatkozunk, hogy a jelölt téziseit ismerjük, a tézisekben foglalt tudományos eredményeket tudományos fokozat megszerzéséhez nem használtuk fel és azokat ilyen célból a jövőben sem fogjuk felhasználni. Elismerjük, hogy Bindics Jánosnak az alábbi közlemények eredményeinek elérésében meghatározó szerepe volt, így a közlemény anyagát Ph.D. értekezésében felhasználhatja.

Missense Mutation in the Amino Terminus of Phytochrome A Disrupts the Nuclear Import of the Photoreceptor. (2012)

Sokolova, V. *, **Bindics, J.** *, Kircher, S., Ádám, É., Schäfer, E., Nagy, F. and Viczián, A.
Plant Physiology 158, 107–118.

IF: 6.555

* - Megosztott első szerzők

Phosphorylation of Phytochrome B Inhibits Light-Induced Signaling via Accelerated Dark Reversion in Arabidopsis. (2013)

Medzihradzky M., **Bindics J.**, Ádám É., Viczián A., Klement É., Lorrain S., Gyula P., Mérai Z., Fankhauser C., Medzihradzky K.F., Kunkel T., Schäfer E., Nagy F.

Plant Cell 25, 535–544.

IF: 9.575

.....
Dr. Viczián András

felelős szerző

.....
Dr. Nagy Ferenc

témavezető, felelős szerző

Szeged, 2014.09.06.