

Szegedi Tudományegyetem
Természettudományi és Informatikai Kar
Biológia Doktori Iskola



Laczi Krisztián

**Szénhidrogén bontó *Rhodococcus erythropolis* törzsek funkcionális
genomikai analízise és biotechnológiai alkalmazása**

Doktori értekezés tézisei

Témavezetők:

Dr. Perei Katalin

egyetemi adjunktus

Dr. Rákhely Gábor

egyetemi docens

Szegedi Tudományegyetem

Biotechnológiai Tanszék

Szeged

2016.

Előzmények

Az elmúlt évszázadban az ipar rohamos fejlődésnek indult. A belső égésű motor feltalálása mérföldkövet jelentett a járműgyártásban, így a kőolajszármazékok üzemanyagként történő felhasználásában is. Ez meggyorsította az utazást, az áruszállítást és fellendítette a gazdaság fejlődését is. A kőolajszármazékokat üzemanyagként, fűtőanyagként, kenőanyagként vagy oldószerként használják az iparban és a hétköznapi életben egyaránt.

A technológiák forradalmi fejlődése és a fogyasztás növekedése miatt az elmúlt évszázad során a kőolaj és származékai potenciális környezetszennyező anyaggá vált. Nemcsak az üzemanyagok égése során felszabaduló nagy mennyiségű szén-dioxid, hanem a kőolaj kitermelése és szállítása alatt bekövetkező balesetek számtalan esetben sodorják veszélybe a környezetet [1]. Az emberiség hamar rádöbrent, hogy a kőolaj származékok minden előnyük mellett óriási hátrányokkal is rendelkeznek. A súlyos egészségkárosító, mérgező komponensek nemcsak a természetet, hanem a szennyezés környezetében élő emberek egészségét is veszélyezteti.

A szénhidrogének környezetben tartósan fennmaradó jellege miatt a nagy mennyiségű szennyezőanyag eltávolítása emberi beavatkozást igényel. Az elmúlt néhány évtizedben sokféle módszert dolgoztak ki a kőolaj szennyezett területek kármentesítésére. A fizikai és kémiai eljárásokkal szemben a szénhidrogének biológiai úton történő eltávolítása olcsóbb és nagy előnye, hogy környezetbarát.

A kőolajszármazékok mikrobiális lebontása régóta ismert. A kőolajiparban egyes baktériumok éppen ezért okoznak problémát, hiszen jelenlétük rontja a kőolajipari termékek minőségét [2]. Más szempontból viszont ez a tulajdonságuk előnyös, hiszen a mikroba fajok széles tárháza áll rendelkezésünkre a szénhidrogénekkal szennyezett területek kármentesítésére.

A szénhidrogének biológiai lebontása végbe mehet anaerob vagy aerob körülmények között is. Az aerob biodegradáció első lépése a molekula oxidálása. Ezt a folyamatot speciális enzimek, ún. oxigenázok katalizálják. Az oxigenázokat csoportosíthatjuk aszerint, hogy hány oxigén atomot építenek be a szubsztrát molekulába. Ez alapján megkülönböztetünk mono- és dioxigenázokat. Mindkét enzimtípus molekuláris oxigént használ a szubsztrát oxidálására. A kőolaj alapú üzemanyagok fő komponensei az alkánok oxidációját főként monooxigenázok katalizálják [3].

A Rhodococcus fajok többsége szerves szennyező anyagok széles skáláját képes felhasználni szén- és energiaforrásként. Emellett egyedülálló alkalmazkodóképességük,

ellenálló, hidrofób sejtfaluk és felületaktív anyagaik kiváló jelölteké teszik őket bioremediációs célokra. Ezek a baktériumok képesek hasznosítani kőolaj komponenseket [4–6], poliklórozott bifenileket [7,8], a környezetben sokáig fennmaradó gombaölő szereket, mint pl. a karbendazim [9], vagy növényvédő szereket, mint pl. a karbation [10].

Kutatómunkám során a szénhidrogének, főként az alkánok biodegradációjának fiziológiás és molekuláris biológiai hátterét vizsgáltam, melyhez két *R. erythropolis* törzset választottam modellorganizmusként. A törzsek szénhidrogén bontó folyamatainak mélyebb megértése elősegíti hatékonyabb alkalmazásukat a bioremediációban.

A *R. erythropolis* PR4 törzset a Csendes-óceánól izolálták 1000 m mélységben. Egyedüli szénforrásként képes a prisztán és más szénhidrogének hasznosítására. [4]. Emellett képes más, vízben nem oldódó szennyező anyagok, mint az élelmiszeriparban felhalmozódó állati zsírok és növényi olajok hasznosítására is [11]. A vizes és szerves fázis közötti transzlokációnak is fontos szerepe van a szerves szubsztrát hozzáférhetővé tételében. A *R. erythropolis* PR4 meg tudja változtatni sejtfelszínének hidrofobicitását, ezáltal könnyebben hozzáfér a szerves fázishoz [12,13]. A PR4 törzs genomját megszekvenálták és 2009-től hozzáférhető a GenBank-ban. A kromoszóma mellett három plazmidot is tartalmaz, melyek közül kettő megaplazmid. A megaplazmidokon többek között az alkán biodegradációban és zsírsav metabolizmusban szerepet játszó gének is találhatóak [14]. A *R. erythropolis* PR4 genomjában kódolt gének közül néhány gén termékét is vizsgálták már. Ilyen például az ipari szempontból fontos egyik bakteriális multicopper-oxidáz [15] vagy a sziderofór bioszintézisben szerepet játszó nem riboszómális peptid szintáz [16].

A csoportunk által izolált *R. erythropolis* MK1 törzs egy talajból származó baktérium. Az izolátum azonosítását a német törzsgyűjtemény (DSMZ) munkatársai végezték 16S rDNS alapú filogenetika és a sejtfal mikolsav összetétele alapján. Hasonlóan a PR4 törzshöz, a *R. erythropolis* MK1 is jó hatékonysággal hasznosítja a hidrofób szubsztrátokat minimál tápoldatban [17]. Mindazonáltal a két törzs jelentősen különbözik, mind élettani, mind pedig morfológiai szempontból. Munkánk kezdetekor az *R. erythropolis* MK1 genomja még nem volt ismert, így a jól definiált *R. erythropolis* PR4 nem csak a szénhidrogén bontási kísérletek referenciatörzsének, hanem a transzkriptomikai vizsgálatok modellorganizmusának is megfelelő volt.

Alkalmazott módszerek

Kísérleteimben a *R. erythropolis* MK1 és PR4 törzseket vizsgáltam. A napi munkához a baktérium törzseket LB lemezen tartottam fenn és LB tápoldatban szaporítottam. A biokonverziós kísérleteimet minimál tápoldatban végeztem el, melyet különböző szénforrásokkal (n-hexadekán, gázolaj, különböző szénhidrogén keverékek, illetve nátrium-acetát), illetve indokolt esetben sókkal egészítettem ki. A talajban végzett kísérleteimhez kereskedelmi forgalomban kapható virágföldet használtam. Az optimális szaporodási körülmények fenntartásának érdekében a sejteket bioreaktorban szaporítottam a teljes transzkriptom analízishez.

Méréseimhez a tápoldat szénhidrogén tartalmát folyadék-folyadék extrakcióval vontam ki. Az O₂, CO₂ és szénhidrogén mennyiségét gázkromatográffal és gázkromatográffal kapcsolt tömegspektrometriával analizáltam. Az eredmények statisztikai értékelését t-próbával hajtottam végre.

A genomi DNS-t hagyományos fenol-kloroformos módszerrel vontam ki a sejtekből. A teljes genom szekvenálás Illumina MiSeq új generációs platformon történt. A *R. erythropolis* MK1 törzs genomját MIRA 4 és CLC Genomic Workbench 7.0 szoftverekkel raktam össze. A genom annotálása a RAST szerveren történt.

A génexpressziós vizsgálatokhoz a teljes RNS kivonást a QiaGen RNeasy Mini Kit protokolljának módosított változatával végeztem el. A teljes transzkriptom analízis új generációs SOLiD™ szekvenáló rendszer segítségével történt. A kiválasztott gének kifejeződését RT-qPCR segítségével ellenőriztem.

Az értekezés főbb eredményei

- 1) Két különböző környezetből - mélytengerből (PR4) és ipari talajból (MK1) - izolált *R. erythropolis* törzset tanulmányoztam és hasonlítottam össze.
- 2) A két törzs szénhidrogén jelenlétében eltérően viselkedik nem-ráztatott közegben. Míg a *R. erythropolis* PR4 emulzióba viszi a n-hexadekánt és a vizes fázisban szaporodik, a *R. erythropolis* MK1 biofilmet képez a n-hexadekán körül és a sejtek a két fázis határán jelennek meg.
- 3) Ráztatott kutúrákból vett minták mikroszkópos vizsgálata alapján mindkét törzs a n-hexadekán cseppek felszínén szaporodik, viszont a cseppek alakja különbözik egymástól. *R. erythropolis* PR4 kultúrában az olajcseppeknek szabályos gömb alakja van, ezzel szemben az MK1 kultúrából származó olajcseppek alakja amorf.
- 4) A két törzs szénhidrogén-bontó képessége is eltér egymástól. A *R. erythropolis* PR4 már három nap alatt lebontja a rendelkezésére álló n-hexadekán 90%-át, míg a MK1 csak a szubsztrát 50%-át hasznosítja két hét alatt. A magas sókoncentráció mindkét törzs esetén lassítja a bontás sebességét, a PR4 csak a 7. napra érte el a 90%-os bontási hányadot, míg az MK1 15 nap alatt csak a szubsztrát 31%-át bontotta le. A talajban mindkét törzs hasonló szénhidrogén-bontó aktivitást mutat. A talaj nedvességtartalma befolyásolja a szénhidrogén-bontás hatékonyságát. Az 50%-os nedvességtartalom mellett mindkét törzs 90-100%-os bontási hatékonyságot ér el, míg 20% és 30% talajnedvesség értékek mellett a szénhidrogén bontási aktivitás 60%-ra esik vissza.
- 5) Alapvetően a szénhidrogének hasznosulhatnak a sejtek felépítő folyamataiban, vagy szén-dioxiddá oxidálódhatnak. A n-hexadekán megközelítőleg 2%-a alakul át szén-dioxiddá, míg a szubsztrát 98%-a a biomasszává alakul. A két törzs talajban hasonló arányban hasznosítja a felvett oxigént. Az n-hexadekán oxidálására az oxigén megközelítőleg 70%-át fordítja, míg egyéb oxidatív folyamatokban 30% vesz részt. A *R. erythropolis* PR4 törzs minimál tápoldatban hasonló arányban használja fel az oxigént, mint talajban, viszont a magas sókoncentráció hatására ez az arány eltolódik. Az eredmények alapján a sós tápoldatban szaporított kultúrák a felvett oxigén 89,5%-át hasznosítják a monooxigenáz reakcióban. Ezzel szemben a *R. erythropolis* MK1 törzs mindkét tápoldatban az oxigén 90%-át fordítja monooxigenáz reakcióra.
- 6) A két *Rhodococcus* törzs eltérően viselkedik különböző gázolaj frakciók jelenlétében is. Az *R. erythropolis* MK1 sokkal lassabban szaporodik mind a négy szénforrásként

alkalmazott gázolaj frakción, mint a PR4. A törzs szaporodása a petróleum frakción a leglassabb. Ez magyarázható a *cyp153* gén hiányával (ld. lentebb).

- 7) Az *R. erythropolis* MK1 genom *de novo* összerakásához hosszú párosított végű leolvasásokat eredményező szekvenálásokat végeztünk Illumina MiSeq új generációs szekvenáló rendszeren. A genom 40 kontigba rendezhető és ezeken 6 252 nyitott leolvasási keretet sikerült azonosítani a RAST segítségével. A két törzs kromoszómája nagymértékben hasonlít. Ugyanakkor a *R. erythropolis* PR4 plazmidjaihoz hasonló szekvencia nem található az MK1 törzs genomjában.
- 8) Mindkét törzs genomjában található olyan monooxygenáz gének, amelyek a szénhidrogének oxidációját katalizálhatják. Ezek közül kiemelendők az *alkB* gének, melyekből a PR4 genomja négyet, az MK1 genomja pedig ötöt tartalmaz.
- 9) A filogenetikai vizsgálatok alapján csak az *alkB3* és *alkB4* gén van közeli rokonságban egymással, a másik két *alkB* gén különböző csoportokba sorolható, ami felveti a horizontális géntranszfer lehetőségét.
- 10) A szénhidrogének oxidációjában résztvevő másik enzimescsoport a citokróm P450 monooxygenázok csoportja, melyekből a PR4 törzs genomja 16-ot, míg az MK1 törzs genomja csupán 11-t kódol. A citokróm P450 fehérjecsaldába tartozó Cyp153 génje két kópiában található meg a *R. erythropolis* PR4 nagy lineáris plazmidján. A szekvenálási eredmények alapján ezeknek a géneknek a szekvenciái hiányoznak a *R. erythropolis* MK1 genomjából.
- 11) A megszekvenált *R. erythropolis* MK1 genomban található 20. kontig feltételezhetően egy óriásplazmid, melyhez egyetlen ismert *Rhodococcus* plazmid sem hasonlít.
- 12) A *R. erythropolis* PR4 törzs teljes transzkriptom analízisét n-hexadekánon, gázolajon, illetve acetáton nevelt kultúrákon végeztük el. A kultúrákat bioreaktorban szaporítottuk. A kiválasztott gének expressziós változását RT-qPCR segítségével validáltuk. Mindemellett egyene láncú, elágazó és gyűrűs szénhidrogéneket tartalmazó mesterséges szénhidrogén keverékeket hoztunk létre és megvizsgáltuk a kiválasztott oxigenáz gének expresszióját a jelenlétükben szaporított sejt kultúrákon [18].
- 13) Összességében 195 gén expressziója változott legalább háromszorosával hexadekán és/vagy gázolaj jelenlétében az acetáton nevelt sejtekben levő szinthez képest.
- 14) 26 oxigenáz gén mRNS szintje emelkedett meg gázolaj és n-hexadekán jelenlétében. Az *alkB1* rendelkezett a legmagasabb expressziós szinttel a monooxygenázok közül mindkét szénforráson. Továbbá az *alkB2* kifejeződése is jelentősen megemelkedett

- szénhidrogének jelenlétében. Az *alkB3* és *alkB4* gének nem indukálódtak semmilyen szénhidrogén hatására [18].
- 15) A gázolajon szaporított kultúrákban 8 *cyp* gén expressziója változott, ezzel szemben a hexadekánon mindössze 1 (*cyp153*). A 8 *cyp* génből 5 indukálódott gyűrűs szénhidrogénekkal kevert hexadekánon nevelt kultúrákban, amiből levonható a következtetés, hogy ezek a gének játszhatnak szerepet a gyűrűs szénhidrogének oxidációjában [18].
 - 16) Egy feltételezett monooxigenáz gén (RER_07440) kifejeződése is erősebb volt gyűrűs vegyületeket is tartalmazó szénforrásokon, mint hexadekánon, vagy elágazó szénhidrogéneket tartalmazó szénforráson, ami arra utal, hogy ez a gén is a gyűrűs vegyületek oxidálásában játszik szerepet [18].
 - 17) A zsírsav metabolizmusban résztvevő gének közül azok expressziós aktivitása emelkedett meg mindkét szénhidrogén szénforráson, melyeknek termékei a β -oxidációban játszanak szerepet. A zsírsavak felépítésében résztvevő FASI enzimet kódoló gén kifejeződését erősen gátolta a szénhidrogének jelenléte. A mikolsavak szintézisében résztvevő FASII enzimrendszer és a poliketid szintáz 13 expressziója nem változott egyik szénforrás jelenlétében sem [18].
 - 18) Az exopoliszacharid szintézisért felelős gének kifejeződésének megemelkedését is megfigyeltük minden vizsgált szénhidrogén jelenlétében. A dízel olaj és az aromás és cikloalkán komponenseket tartalmazó mesterséges szénhidrogén keverék 4-10-szer erősebben indukálta ezeket a géneket, mint a lineáris és az elágazó alkánok, ami az aromás vegyületek és cikloalkánok toxikus hatására vezethető vissza [18].
 - 19) A fentiekén kívül a vas transzportban és siderofór szintézisben résztvevő géneket is indukálták a szénhidrogének [18].
 - 20) A teljes sejt transzkriptom vizsgálatok feltárták a sejteknek - a különböző egyenes láncú, elágazó, ciklikus, és aromás szénhidrogének jelenlétére adott -szintű metabolikus válaszát. A jól ismert elemek mellett, teljesen új komponenseket is azonosítottunk, melyek vélhetően részt vesznek ezekben a folyamatokban. t. Az is bebizonyosodott, hogy más szénhidrogén bontókkal ellentétben a *R. erythropolis* PR4 képes a különböző szénhidrogének egyidejű hasznosítására (az egyenes láncútól a poliaromás vegyületekig), azaz nincs nyilvánvaló szubsztrátpreferenciája [18].

Hivatkozások

1. National Research Council (US) Committee on Oil in the Sea: Inputs, Fates, and Effects. Oil in the Sea III: Inputs, Fates, and Effects [Internet]. Washington (DC): National Academies Press (US); 2003 [cited 2015 Nov 21]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK220703/>
2. Shennan JL. Control of Microbial Contamination of Fuels in Storage. In: Houghton DR, Smith RN, Eggins HOW, editors. Biodeterior. 7 [Internet]. Springer Netherlands; 1988 [cited 2016 Feb 14]. p. 248–55. Available from: http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-009-1363-9_32
3. van Beilen JB, Funhoff EG. Expanding the alkane oxygenase toolbox: new enzymes and applications. Curr. Opin. Biotechnol. 2005;16:308–14.
4. Komukai-Nakamura S, Sugiura K, Yamauchi-Inomata Y, Toki H, Venkateswaran K, Yamamoto S, et al. Construction of bacterial consortia that degrade Arabian light crude oil. J. Ferment. Bioeng. 1996;82:570–4.
5. Auffret M, Labbe D, Thouand G, Greer CW, Fayolle-Guichard F. Degradation of a Mixture of Hydrocarbons, Gasoline, and Diesel Oil Additives by *Rhodococcus aetherivorans* and *Rhodococcus wratislaviensis*. Appl. Environ. Microbiol. 2009;75:7774–82.
6. Li C, Zhou Z-X, Jia X-Q, Chen Y, Liu J, Wen J-P. Biodegradation of crude oil by a newly isolated strain *Rhodococcus* sp. JZX-01. Appl. Biochem. Biotechnol. 2013;171:1715–25.
7. Maeda M, Chung SY, Song E, Kudo T. Multiple genes encoding 2,3-dihydroxybiphenyl 1,2-dioxygenase in the gram-positive polychlorinated biphenyl-degrading bacterium *Rhodococcus erythropolis* TA421, isolated from a termite ecosystem. Appl. Environ. Microbiol. 1995;61:549–55.
8. Kosono S, Maeda M, Fuji F, Arai H, Kudo T. Three of the seven *bphC* genes of *Rhodococcus erythropolis* TA421, isolated from a termite ecosystem, are located on an indigenous plasmid associated with biphenyl degradation. Appl. Environ. Microbiol. 1997;63:3282–5.
9. Zhang X, Huang Y, Harvey PR, Li H, Ren Y, Li J, et al. Isolation and characterization of carbendazim-degrading *Rhodococcus erythropolis* djl-11. PloS One. 2013;8:e74810.
10. Warton B, Matthiessen JN, Roper MM. The soil organisms responsible for the enhanced biodegradation of metham sodium. Biol. Fertil. Soils. 2001;34:264–9.
11. Kis Á, Laczi K, Zsíros S, Rákhely G, Perei K. Biodegradation of animal fats and vegetable oils by *Rhodococcus erythropolis* PR4. Int. Biodeterior. Biodegrad. 2015;105:114–9.
12. Iwabuchi N, Sharma PK, Sunairi M, Kishi E, Sugita K, Mei HC van der, et al. Role of Interfacial Tensions in the Translocation of *Rhodococcus erythropolis* during Growth in a Two Phase Culture. Environ. Sci. Technol. 2009;43:8290–4.
13. Takihara H, Ogihara J, Yoshida T, Okuda S, Nakajima M, Iwabuchi N, et al. Enhanced Translocation and Growth of *Rhodococcus erythropolis* PR4 in the Alkane Phase of Aqueous-

Alkane Two Phase Cultures Were Mediated by GroEL2 Overexpression. *Microbes Environ.* 2014;29:346–52.

14. Sekine M, Tanikawa S, Omata S, Saito M, Fujisawa T, Tsukatani N, et al. Sequence analysis of three plasmids harboured in *Rhodococcus erythropolis* strain PR4. *Environ. Microbiol.* 2006;8:334–46.

15. Classen T, Pietruszka J, Schuback SM. A new multicopper oxidase from Gram-positive bacterium *Rhodococcus erythropolis* with activity modulating methionine rich tail. *Protein Expr. Purif.* 2013;89:97–108.

16. Bosello M, Zeyadi M, Kraas FI, Linne U, Xie X, Marahiel MA. Structural Characterization of the Heterobactin Siderophores from *Rhodococcus erythropolis* PR4 and Elucidation of Their Biosynthetic Machinery. *J. Nat. Prod.* 2013;76:2282–90.

17. Kis Á, Laczi K, Hajdú A, Szilágyi Á, Rákhely G, Perei K. Efficient Removal of Unctuous Wastes from Wastewater. *Int. J. Biosci. Biochem. Bioinforma.* 2013;3:395–7.

18. Laczi K, Kis Á, Horváth B, Maróti G, Hegedüs B, Perei K, et al. Metabolic responses of *Rhodococcus erythropolis* PR4 grown on diesel oil and various hydrocarbons. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2015;99:9745–59.

Tudományos Közlemények

MTMT azonosító: 10034418

Összesített Impakt faktor: 9,585

Szakmai folyóiratban megjelent cikkek

A Ph.D. fokozatszerzéshez felhasznált publikációk

2015.

A dolgozat alapját képző elsőszerzős publikáció:

Krisztián Laczi; Ágnes Kis; Balázs Horváth; Gergely Maróti; Botond Hegedüs, Katalin Perei and Gábor Rákhely. **Metabolic responses of *Rhodococcus erythropolis* PR4 grown on diesel oil and various hydrocarbons.** *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2015. **99**:9745-59.

Impakt faktor: **3,337**

A dolgozat alapjául nem szolgáló, de hozzá szorosan kapcsolódó publikáció:

Ágnes Kis, Krisztián Laczi, Szilvia Zsíros, Gábor Rákhely, Katalin Perei. **Biodegradation of animal fats and vegetable oils by *Rhodococcus erythropolis* PR4.** *Int. Biodeter. Biodegr.* 2015. **105**:114-119

Impakt faktor: **2,131**

Egyéb publikációk

2014.

Gábor Rákhely, Balázs Bálint, Rita Béres, Ágnes Kis, Kornél Kovács, Krisztián Laczi, Andrea Nyilasi, András Fülöp, Zoltán Bagi, Etelka Kovács, Gergely Maróti, Katalin Perei. **Production of gaseous biofuels and fine chemicals from food industrial wastes.** *New Biotechnology* 2014. **31**:S103

Impakt faktor: **2,898**

2013.

Ágnes Kis; Krisztián Laczi; Andrea Hajdú; Árpád Szilágyi; Gábor Rákhely and Katalin Perei **Efficient Removal of Unctuous Wastes from Wastewater.** *Int J Biosci Biochem Bioinforma* 2013. **3**:395–397.

Tímea Mosolygó; Gabriella Spengler; Valéria Endrész; Krisztián Laczi; Katalin Perei and Katalin Burián. **IL-17E production is elevated in the lungs of BALB/c mice in the later stages of *Chlamydia muridarum* infection and re-infection.** 2013. *IN VIVO* 27:(6) pp. 787-792.

Impakt faktor: **1,219**

2012.

Krisztián Laczi; Ágnes Kis; Kornél L Kovács; Gábor Rákhely; Katalin Perei. **Biosurfactant synthesis in the oil eater *Rhodococcus erythropolis* MK1 strain.** Proceedings of the 17th International Symposium on Analytical and Environmental Problems. Szeged: *JATE Press*, pp. 129-133. (2012.) ISBN:978-963-315-066-5

Ágnes Kis; Krisztián Laczi; Roland Tengölics; Kornél L Kovács; Gábor Rákhely; Katalin Perei. **Biodegradation of unctuous wastes of food industry.** Proceedings of the 17th International Symposium on Analytical and Environmental Problems. Szeged: *JATE Press*, pp. 142-145. (2012.) ISBN:978-963-315-066-5

Konferencia absztraktok

Előadások

2015.

Rákhely, Gábor, Botond Hegedűs, Ágnes Kis, Krisztián Laczi, Gábor Bende, Attila Bodor and Katalin Perei (2015). **Metabolic insight into biodegradation of sulfonated aromatic and other industrial hydrocarbon wastes.**

Proc. 6th European Bioremediation Conference Chania, Crete, Greece, June 29-July 2, Eds.: N. Kalogerakis, F. Fava, E. Manousaki, p. 256, ISBN: 978-960-8475-23-6.

2014.

Laczi Krisztián, Kis Ágnes, Bodor Attila, Rákhely Gábor és Perei Katalin. (2014) **Két *Rhodococcus* törzs szénhidrogénbontó képességének összehasonlítása különböző közegekben.** Tavaszi Szél Konferencia 2014. március 21-23. Debrecen, Magyarország

Kis Ágnes, Laczi Krisztián, Zsíros Szilvia, Rákhely Gábor, Perei Katalin. (2014) **Hidrofób Szennyező Anyagok Biodegradációja**. Tavaszi Szél Konferencia 2014. március 21-23. Debrecen, Magyarország

Kis Ágnes; Laczi Krisztián; Zsíros Szilvia; Rákhely Gábor; Perei Katalin. (2014) **Új hatékony izolátum alkalmazása hidrofób szennyező anyagok lebontására**. Első Innováció a Természettudományban 2014- Doktorandusz Konferencia 2014. május 2-3. Szeged, Magyarország

2013.

Krisztián Laczi; Ágnes Kis; Attila Bodor; Gábor Rákhely and Katalin Perei. (2013) **Molecular and physiological comparison of two hydrocarbon degrading Rhodococcus strains**; *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 60:(suppl.1) pp. 171-172. IV. CEFORM 2013. október 16-18. Keszthely, Magyarország

Tímea Mosolygó; Gabriella Spengler; Emese Petra Balogh; Valéria Endrész; Krisztián Laczi; Katalin Perei; Katalin Burián. (2013) **IL-17E production is elevated in the lungs of BALB/c mice in the later stages of *Chlamydia muridarum* infection and reinfection**. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 60:(suppl.1) pp. 189-190.

IV. CEFORM 2013. október 16-18. Keszthely, Magyarország

2012.

Krisztián Laczi; Ágnes Kis; Kornél L. Kovács; Gábor Rákhely; Katalin Perei. **Microbial tools for removal of unctuous pollutants**.

Lacremed 2012.08.31. Szeged, Magyarország

Krisztián Laczi. **Mycolic acid biosynthesis in *Rhodococcus erythropolis***. *Acta Biologica Szegediensis* 56:(1) p. 84. (2012)

Krisztián Laczi; Ágnes Kis; Emese Bató; Kornél L. Kovács; Gábor Rákhely; Katalin Perei. (2012) **Biodegradation of food industrial and housekeeping wastes**.

Wastestorming "2012" An International Conference on Waste Management. 2012.03.01. Pécs, Magyarország

Ágnes Kis; Dominika Olasz; Krisztián Laczi; Gábor Rákhely and Katalin Perei. (2013) **Effect of immobilization of cells and/or presence of cyclodextrin on biodegradation of hydrophobic compounds.** *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 60:(Suppl.1) pp. 32-33.

A Magyar Mikrobiológiai Társaság Naggyűlése 2012.10.24-26. Keszthely, Magyarország

Ágnes Kis; Krisztián Laczi; Kovács L. Kornél; Gábor Rákhely; Katalin Perei. **Microbial solution for removal of hydrocarbon.**

Wastestorming "2012" An International Conference on Waste Management. 2012.03.01. Pécs, Magyarország

Kis Ágnes; Laczi Krisztián; Tengölics Roland; Zsíros Szilvia; Kovács L Kornél; Rákhely Gábor; Perei Katalin. **Kőolaj és élelmiszeripari hulladékok biodegradációja.** Környezettudományi Doktori Iskolák Konferenciája 2012.08.30-31. Budapest, Magyarország ISBN: 978-963-315-066-5

Gábor Rákhely; B Hegedűs; M Magony; Krisztián Laczi; A Tóth; G Maróti; F K Medzihradzky; K L Kovács; K Perei. (2012) **Metabolism of sulfonated aromatic compounds in *Novosphingobium subarcticum* SA1 strain;** *Environmental Engineering and Management Journal* 11:(3/Suppl.) p. S5.

Poszterek

2015.

Krisztián Laczi, Ágnes Kis, Katalin Perei and Gábor Rákhely (2015) **Expression profile of monooxygenases in *Rhodococcus erythropolis* PR4 grown on artificial hydrocarbon mixtures.**

European Bioremediation Conference Chania, Crete, Greece, June 29-July 2, Eds.: N. Kalogerakis, F. Fava, E. Manousaki, p. 182, ISBN: 978-960-8475-23-6.

Ágnes Kis, Krisztián Laczi, Attila Bodor, Gábor Rákhely and Katalin Perei (2015) **Bioremediation of fresh and old diesel oil contaminated soil By biostimulation and bioaugmentation.**

6th European Bioremediation Conference Chania, Crete, Greece, June 29-July 2, Eds.: N. Kalogerakis, F. Fava, E. Manousaki, p. 61, ISBN: 978-960-8475-23-6

Katalin Perei, Ágnes Kis, Krisztián Laczi, Szilvia Zsíros and Gábor Rákhely (2015) **Biodegradation of hydrophobic wastes by rhodococcus strains.**

6th European Bioremediation Conference Chania, Crete, Greece, June 29-July 2, Eds.: N. Kalogerakis, F. Fava, E. Manousaki, p. 79, ISBN: 978-960-8475-23-6.

Attila Bodor, Krisztián Laczi, Ágnes Kis, Sándor Mészáros, Nikolett Rácz, Gábor Rákhely, Katalin Perei (2015) **Microbial degradation of hydrophobic compounds under various environmental conditions.**

21th International Symposium on Analytical and Environmental Problems. Szeged, September 28. ISBN 978-963-306-411-5.

Bodor Attila, Mészáros Sándor, Kis Ágnes, Laczi Krisztián, Rákhely Gábor, Perei Katalin (2015) **Szénhidrogének biodegradációjára alkalmas baktérium törzsek izolálása bioremediációs eljárásokban.**

Innováció a természettudományban – Doktorandusz Konferencia, Szeged, 2015. szeptember 26. ISBN 978-963-9970-63-2.

2013.

Ágnes Kis; Krisztián Laczi; Andrea Hajdú; Árpád Szilágyi; Gábor Rákhely; Katalin Perei. (2013) **Efficient removal of unctuous wastes from wastewater.**

APCBEES 2013.04.21 Peking, Kína

2012.

Krisztián Laczi; Ágnes Kis; K L Kovács; G Rákhely; Katalin Perei. (2013) **Biodegradation of food industrial wastes by Rhodococcus sp.;** *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 60:(Suppl. 1.)

A Magyar Mikrobiológiai Társaság Naggyűlése 2012.10.24-26. Keszthely Magyarország

András Tóth; Krisztián Laczi; Gábor Rákhely and Kornél L. Kovács. **Production of glycoamylase enzyme variants in *Pichia pastoris* expression systems.**

Pichia 2012 Conference 2012.02.29-03.03. Alpbach, Austria

Botond Hegedűs; Katalin Perei; Mónika Magony; Krisztián Laczi; András Tóth; Kornél L Kovács; Gábor Rákhely. **Metabolic and protein-protein interactions of sulfanilic acid catabolism in *Novosphingobium subarcticum* SA1**; ENVIRONMENTAL ENGINEERING AND MANAGEMENT JOURNAL 11:(3/Suppl.) p. S20. (2012)

Egyéb közlemények

Laczi Krisztián; Kis Ágnes; Bodor Attila; Rákhely Gábor és Perei Katalin. **„Olajfaló” baktériumokkal a szénhidrogén szennyeződések elleni harcban**. Zöld Újság XI. évfolyam 3. szám (2013)