

Ph.D. értekezés tézisei

**A fitokróm fotoreceptorok szabályozó funkciójának molekuláris
szintű vizsgálata transzgenikus növényekben**

Készítette: Kozma-Bognár László

Témavezető: Dr. Nagy Ferenc

Készült: MTA Szegedi Biológiai Központ,

Növénybiológiai Intézet

Szeged

2002.

BEVEZETÉS

Az élő szervezetek egyik legfontosabb tulajdonsága az őket körülvevő környezet változásaihoz való alkalmazkodás képessége. Az állatok leggyorsabb és legegyszerűbb reakciója a helyválttatás, míg a helyhez kötött növényeknek alkalmazkodniuk kell a megváltozott körülményekhez, mégpedig anyagcseréjük, növekedésük és fejlődésük olyan módon történő módosításával, ahogy azt az új környezetben való túlélés szükségessé teszi.

A növények számára a legfontosabb környezeti tényező a fény, a fotoszintézis energiaforrása. Alapvető jelentőségű tehát, hogy a növények fotoszintetikus kapacitása mindig az adott fényviszonyoknak megfelelő, optimális legyen. Ezt biztosítandó, a növények speciális fotoreceptorokkal rendelkeznek, amelyek által folyamatosan detektálják az őket körülvevő fény mennyiségét és minőségét. Így képesek a fény intenzitásának, a fény/sötét szakaszok hosszának mérésére, a fény spektrális eloszlásának megváltozásán át pedig a körülöttük található vegetáció sűrűségének meghatározására. Mindezen információk (vagy jelek) a fotoreceptorokon keresztül úgy szabályozzák az egyed növekedését, fejlődését, hogy az a rendelkezésre álló erőforrásokat a lehető legjobb hatásokkal használja fel.

A Föld tengely körüli forgása következtében, természetes körülmények között, a nappal (fény és meleg), valamint az éjszaka (sötét és hideg) ciklikusan, 24 órás periódusokban követik egymást. Azok az egyedek, amelyek képesek e periodikus változások érzékelésére és rögzítésére, képessé válnak a relatív idő mérésére is; vagyis előre meghatározhatják a fény, és hőmérsékleti körülmények megváltozásának időpontját, és még azt megelőzően felkészülhetnek rá. Az alkalmazkodás e végtelenül kifinomult módjának szabályozására egy bonyolult mechanizmus, egyfajta biológiai óra alakult ki az evolúció során szinte valamennyi organizmusban, a baktériumoktól az emberig. A biológiai óra biztosítja az általa szabályozott folyamatok ritmikus működését,

hosszvetőlegesen 24 órás periódussal, ezért cirkadián (a latin *circa diem* = kb. egy nap) órának, az általa létrehozott ritmust pedig cirkadián ritmusnak is nevezzük. Az óra megfelelő működésének feltétele, hogy szinkronban legyen a külső környezettel. Az óra beállítása ismétlődő környezeti hatásokkal lehetséges, amelyek közül legfontosabbak a fény és a hőmérséklet. A fényt a már említett, speciális fotoreceptorok közvetítik az órához. A környezetével összhangban működő cirkadián óra tehát előre jelzi „gazdájának” a körülmények megváltozását, pl. a sötét→fény átmenet (hajnal) várható időpontját, így az még a sötét fázisban úgy módosíthatja életműködéseit, hogy a fény megjelenése után „késlekedés” nélkül alkalmazkodhat a nappali viszonyokhoz. Különösen fontos ez a növények esetében, hiszen számukra a fény az egyik legfontosabb környezeti tényező, a növekedéshez szükséges energia forrása.

Összegezve: a fény, mint környezeti jel a fotoreceptorok által úgy módosítja a növények életműködéseit, hogy azok a lehető legjobban alkalmazkodjanak az aktuális fényviszonyokhoz. A cirkadián óra e regulációs folyamatba épülve, az alkalmazkodás „finomhangolását” teszi lehetővé.

A fotoreceptorok meghatározó szerepe a magasabbrendű növények életében, fejlődésében kétségtelen. Ezért számos kutatóhely egymással versengve fáradozik a növényi fotoreceptorok megismerésén, jellemzésén. Ez magában foglalja a receptorok szerkezetének leírását, a fényabszorpciót követő molekuláris események feltárását, a receptoroktól a célgénig húzódó jelátviteli utak azonosítását, a célgének működésének jellemzését, valamint az e gének megváltozott kifejeződésének eredményeképp megjelenő fiziológiai vagy makroszkópos válaszok vizsgálatát. Munkacsoportunk fő kutatási területe a legfontosabb növényi fotoreceptorok, a fitokrómok molekuláris szintű jellemzése, valamint a foto- és kronobiológiai folyamatok szabályozásában betöltött szerepének vizsgálata. Jelen dolgozatban azokat a közelmúltban nyert eredményeinket mutatom be, amelyek egyrészt teljesen új magyarázatot kínálnak arra, hogy a

fényabszorpciót követően a fitokrómok miképpen közvetítik a serkentő/gátló jeleket a sejtmagba, ezáltal megváltoztatva az erre érzékeny gének működését; másrészt bizonyítják, hogy a fitokrómok nem pusztán a beállításhoz szükséges fényt továbbítják a cirkadián órához, mint az eddig általánosan elfogadott volt, hanem azzal sokkal szorosabb kölcsönhatásban állnak.

A KUTATÁSI TÉMA ELŐZMÉNYEI, CÉLKITŰZÉSEK

A közelmúltig általánosan elfogadott modell szerint a növényi fényindukált génkifejeződés a következő molekuláris események során valósul meg. A citoplazmában található fotoreceptorok a fényabszorpciót követően aktiválnak egy jelátviteli rendszert, amely a fotoreceptoroktól származó jelet a sejtmagba továbbítja. Ennek hatására a sejtmagi COP1-COP9 szignáloszóma rendszer (amely a fényregulált gének működését szabályozó transzkripciós faktorok lebomlását irányítja) inaktíválódik, a megfelelő transzkripciós faktorok mennyisége emelkedik, ez pedig a fényregulált gének indukciójához vezet. A modell általános érvényességét már többször megkérdőjelezték, de igazán csak Sakamoto és Nagatani (1996) kísérletei hívták fel a figyelmet a fitokrómok esetleges fényfüggő sejtmagi lokalizációjára. Az általuk alkalmazott *in vitro* módszer (sejt-frakcionálást követő immunokémiai analízis) azonban a korábbi tapasztalatok alapján nem ad teljesen megbízható eredményt a fitokrómok sejtmagon belüli elhelyezkedésének igazolására.

A következő érdekes fejlemény 1998-ban került napvilágra. Ni és munkatársai kimutatták, hogy a PHYB fotoreceptor konformáció-függő és reverzibilis módon kölcsönhat a PIF3 (phytochrome interacting factor 3) transzkripciós faktorra *in vitro* körülmények között. A kölcsönhatás csak P_{fr} formájú PHYB esetén mutatható ki és távoli vörös besugárzással megszüntethető. A PIF3 számos fényindukált gén promóteréhez kapcsolódik, és transzkripciós aktivátorként működik. Túltermeltetése a PHYB-függő

fényválaszok hiper-érzékenységet okozza, bizonyítván, hogy valós funkcióval rendelkezik a PHYB-közvetítette jelátvitelben. Mivel a PIF3 transzkripciós faktor konstitutívan a sejtmagban található, a kölcsönhatásra is a sejtmagban kerülhet sor, így az adatok tovább erősítették azt a feltevést, hogy a fitokrómok bizonyos körülmények között a sejtmagba importálódhatnak. A fenti eredmények birtokában terveztük meg kísérleteinket, amelyek során a PHYA és a PHYB receptorok sejten belüli eloszlását kívántuk vizsgálni különböző fényviszonyok mellett, *in vivo* körülmények között. A tervezett munka főbb lépései a következők voltak:

1. Transzgenikus növények előállítása, amelyekben kifejeztetjük a PHYA-GFP, ill. a PHYB-GFP fúziós fehérjét.
2. Annak igazolása, hogy a termeltetett fúziós fehérjék biológiailag aktív fotoreceptorokként működnek a növényi sejtekben.
3. A fúziós fehérjék szubcelluláris eloszlásának vizsgálata a GFP fluoreszcencia követésével különböző fényviszonyok mellett.
4. Amennyiben a vizsgált fehérjék fényregulált sejtmagi importját/exportját tapasztaljuk, a folyamat(ok) kinetikájának valamint fényintenzitás- és hullámhossz-függésének vizsgálata.

A vázolt kísérletek eredményei várhatóan új részletekkel gazdagítják a fitokróm receptoroktól a fényregulált sejtmagi génekig ívelő jelátviteli rendszerről rendelkezésre álló ismereteinket.

A fitokrómok a fényfüggő életfolyamatok szabályozása mellett fontos szerepet játszanak a cirkadián óra fázisának beállításában is. A korábbi ismeretek alapján az input fotoreceptorok a beállításban hatásos fényt elnyelnek, majd a központi oszcillátorhoz továbbítják, amely folyamat révén az oszcillátor fázisa (időzítése) a külső környezet periodikus változásaihoz igazítódik. A folyamat egyirányúnak bizonyult, mivel a központi oszcillátor – a korábbi adatok alapján – nem gyakorol hatást az input receptorok

szintézisére vagy aktivitására. Az *ecetmuslica* és az egér cirkadián rendszer kutatásának legújabb eredményei ugyanakkor azt mutatják, hogy ezekben a szervezetekben az oszcillátor szabályozza az input fotoreceptorokat (kriptokrómok) kódoló gének kifejeződését. Ezzel bizonyítást nyert egy ún. input szabályozó kör léte, amelynek legfontosabb feladata a megfelelő fázisban érkező beállító jelek hatásának erősítése (ill. a nem megfelelő fázisban érkező jelek hatásának csökkentése) és ezáltal az oszcillátor működésének stabilizációja lehet. Mivel a szabályozásnak ez a módja a növényi cirkadián rendszerben még ismeretlen volt, valamint a fitokrómok funkcióját szorosan érintő jelenségről van szó, elhatároztuk, hogy megvizsgáljuk a *PHYA* és *PHYB* gének kifejeződését az esetleges cirkadián reguláció szempontjából. Az eukarióta génkifejeződés több, egymástól elkülöníthető szakaszra, szintre bontható, amelyek esetenként különböző szabályozás hatása alatt állnak, ezért szükségesnek láttuk a fitokróm génexpresszió valamennyi szintjének megfelelő módszerekkel történő vizsgálatát az alábbi munkaterv szerint:

1. A promóter aktivitás vizsgálata olyan transzgenikus növények felhasználásával, amelyekben különböző fitokróm promóter::luciferáz riporter konstrukciókat fejeztetünk ki.
2. A fitokróm génekről átíródó mRNS molekulák felhalmozódásának, szintjének vizsgálata S1 nukleáz protekciós analízissel.
3. A fitokróm mRNS molekulák transzlációjának vizsgálata olyan transzgenikus növények felhasználásával, amelyekben fitokróm-luciferáz fúziós fehérjéket fejeztetünk ki a megfelelő fitokróm promóter irányítása alatt.
4. A fitokróm fehérjék felhalmozódásának, szintjének vizsgálata Western analízissel.

A fent vázolt kísérletek eredményei várhatóan egyértelmű választ adnak arra a kérdésre, hogy szabályozza-e a cirkadián oszcillátor a fitokróm gének kifejeződését, és ha igen, milyen szint(ek)en.

ALKALMAZOTT MÓDSZEREK

- *Nicotiana tabacum* és *Arabidospis thaliana* növények nevelése steril és üvegházi körülmények között
- Molekuláris klónozási technikák
- Növényi genomiális DNS tisztítás
- Növényi össz-RNS tisztítás
- Northern hibridizáció, S1 nukleáz protekciós analízis (S1NPA)
- Western-blot analízis
- Transzgenikus növények előállítása
- Fény, fluoreszcens és konfokális mikroszkópia
- *In vivo* luciferáz enzimaktivitás-meghatározás

EREDMÉNYEK ÉS MEGVITATÁSUK

1. *In vitro* DNS-manipulációs technikák alkalmazásával a GFP riportergént a rizs PHYA, ill. a dohány PHYB fehérjét kódoló cDNS molekulák 3' végéhez fuzionáltuk, majd a konstrukciókat stabil transzformáns dohánynövényekben fejeztettük ki a CaMV 35S promóter irányítása alatt. Ennek eredményeként a transzgenikus növények sejtjeiben PHYA-GFP ill. PHYB-GFP fúziós fehérjék termelődése várható, amelyek sejten belüli eloszlása fluoreszcens mikroszkópiával követhető *in vivo*. A fúziós fehérjék megjelenését Western-analízissel kimutattuk. A megfelelő transzgenikus növényeken megfigyeltük a PHYA- ill. a PHYB-túltermelés specifikus jegeit, ami arra utal, hogy a fúziós fehérjék funkcionális PHYA ill. PHYB fotoreceptorokként működnek. Ez valószínűsíti azt, hogy a PHYA-GFP és PHYB-GFP fehérjék sejten belüli eloszlása is (amennyiben ennek

funkcionális jelentősége van) hasonló lesz az endogén PHYA és PHYB fotoreceptorokéhoz.

2. Kimutattuk, hogy a PHYA-GFP és PHYB-GFP fehérjék fényen nevelt növények esetében a sejtmagban, sötétben nevelt (etiolált) növények esetében a citoplazmában helyezkednek el. A folyamat részletesebb jellemzése érdekében megvizsgáltuk különböző hullámhosszúságú (vörös és távoli vörös) fényvel történő besugárzások hatását a sejtmagi importra, etiolált növényekben. A PHYB-GFP importja vörös fényvel indukálható volt, míg a vörös megvilágítást közvetlenül követő távoli vörös besugárzás, akárcsak a távoli vörös besugárzás önmagában, hatástalannak bizonyult. Az importfolyamat vörös/távoli vörös fény által szabályozott megfordíthatósága arra utal, hogy a PHYB-GFP fotokonverziós állapotán (P_r/P_{fr}) keresztül szabályozza saját importját (csak P_{fr} állapotban léphet be a sejtmagba). Ezt a feltételezést alátámasztja az a megfigyelés is, hogy a kromofór kötésére (így a fotokonverzióra) képtelen mutáns PHYB*-GFP protein a fényviszonyoktól függetlenül mindig a citoplazmában volt megtalálható. A PHYB-GFP sejtmagi importja tehát a fitokróm-közvetítette LF (low fluence) fényválaszok jellemzőit mutatja. A PHYA-GFP sejtmagi importja alacsony intenzitású vörös fényvel és távoli vörös fényvel is indukálható volt. Ezek alapján a PHYA-GFP sejtmagi importja a PHYA-közvetítette VLF (very low fluence) fényválaszok jellegzetes vonásait mutatja. Mivel a PHYA-GFP és PHYB-GFP sejtmagi importját indukáló fénykörülmények megegyeznek az általuk szabályozott fényválaszok fény mennyiség és -minőség-igényeivel, a fényregulált sejtmagi import a fitokrómok jelátviteli rendszerének egyik kulcslépése lehet.

3. A transzlokáció kinetikáját vizsgálva megállapítottuk, hogy etiolált növényekben a PHYA-GFP fehérjék sejtmagi akkumulációja már 15-20 perccel az induktív megvilágítást követően eléri maximális szintjét, míg a PHYB-GFP fehérjék esetében ehhez mintegy 2 óra szükséges. Az importot követően sötétben a fúzós fehérjék eltűnése a sejtmagból

jelentősen gyorsabb folyamat, mint az becsült degradációs sebességük alapján várható lenne, ezért feltételezzük egy aktív sejtmagi export folyamat létét is. A PHYB protein N-terminális ill. C-terminális csonka verzióit tartalmazó GFP fúziós fehérjék (N-PHYB-GFP ill. C-PHYB-GFP) fényviszonyoktól független lokalizációt mutattak: az N-PHYB-GFP mindig a citoplazmában, míg a C-PHYB-GFP mindig a sejtmagban volt megtalálható. Ezek a megfigyelések támogatják azt az elképzelésünket, amely szerint a PHYB protein C-terminális részén egy NLS motívum található, amely Pr formában inaktív; következésképp a C-PHYB fehérje konformációjának olyan állapotban kell rögzülnie, amely az NLS állandó aktivitását eredményezi. Abban az esetben, ha a PHYB*-GFP konstitutív citoplazmatikus lokalizációját azzal magyarázzuk, hogy egy hipotetikus retenciós faktor specifikusan kötődik a Pr formához, lehorgonyozva azt a citoplazmában, még egy CRS (cytosolic retention signal) motívumot is fel kell tételeznünk, amelyen keresztül ez a kölcsönhatás megvalósulhat.

4. A PHYA-GFP és PHYB-GFP fehérjék importjukat követően nem egyenletes eloszlást mutatnak a sejtmagban, hanem jellegzetes foltokba koncentrálnak. Ezek a foltok valószínűleg olyan multiprotein-komplexeket jelentenek, amelyeknek a PHY-GFP fúziós fehérjék is részei. Mivel a PHYA-GFP és PHYB-GFP által kialakított foltok száma és mérete is eltérő, feltételezzük, hogy a két fúziós fehérje különböző komplexek felépítésében vesz részt. A jelenség funkciójának magyarázatára két lehetőség kínálkozik. Egyrészt, mivel a PHY-GFP fúziós fehérjék foltszerű sejtmagi lokalizációja nagyon hasonlít a COP1-GFP protein sejtmagi mintázatához, elképzelhető, hogy a sejtmagba importált fitokrómok kölcsönhatásba lépnek a különböző E3-ubiquitin-ligáz-COP1-bZIP transzkripció faktor komplexekkel, valamilyen módon inaktiválják a COP1 proteint (vagy gátolják a COP1-transzkripció faktor kölcsönhatást), aminek eredményeként felfüggesztik a nevezett transzkripció faktorok proteolízisét. Ez a faktorok mennyiségének emelkedéséhez, végső soron pedig a fényindukált gének egy részének indukciójához vezet. Másrészt, mint azt a

bHLH típusú PIF3 transzkripciós faktor esete is példázta, elképzelhető, hogy a transzkripciós faktorok egy másik része konstitutív módon kapcsolódik a megfelelő fényregulált gének promóteréhez, de ez a transzkripciós komplex a fitokrómok hiányában (sötétben) inaktív. A fényindukciót követően a fitokrómok a sejtmagba importálódnak, P_{fr} formában kapcsolódnak a promóter-kötött transzkripciós faktorokhoz, majd az így aktivált komplexek serkentik az adott gének átíródását. Elképzelésünk szerint tehát a sejtmagba importált fitokrómok multiprotein-komplexek kialakításában vesznek részt, amelyek közvetve vagy közvetlenül szabályozzák a fényregulált gének működését. Ugyanakkor, a korábbi irodalmi adatok alapján nyilvánvaló, hogy a fitokrómok fontos citoplazmatikus funkciókkal is rendelkeznek. Annak felderítésére, hogy a fitokróm-regulált válaszok közül pontosan melyik kapcsolható a fitokrómok citoplazmatikus vagy sejtmagi funkciójához, még további kísérletek szükségesek.

5. A dohány *PHYA*, *PHYB*, valamint az *Arabidopsis PHYB* gének promótereit összeépítettük a luciferáz riportergén kódoló régiójával, majd a konstrukciókat (*NtPHYA::LUC*, *NtPHYB::LUC* és *AtPHYB::LUC*) megfelelő gazdanövényekbe transzformáltuk. A transzgenek kifejeződésének tér- és időbeli mintázatát a transzgenikus növények lumineszcenciájának mérésével követtük. A konstrukciók szerv- és szövetspecifikus kifejeződése megegyezett az adott gének kifejeződéséről kapott korábbi adatokkal, így valószínűsíthető, hogy a konstrukciók kifejeződésének időbeli lefutása is hűen tükrözi majd a megfelelő endogén promóterek aktivitásának változásait.

6. A konstrukciókat hordozó csíranövényeket LD (12 h fény/12 h sötét) fotoperiódus mellett neveltük egy hétig, majd ugyanilyen körülmények között nyomon követtük a luciferáz aktivitás változásait. Valamennyi konstrukció esetében markáns diurnális ritmust tapasztaltunk. Amikor viszont a méréseket a beállítást követően LL (folyamatos fény) és DD (folyamatos sötét) körülmények között is elvégeztük, azt tapasztaltuk, hogy az

NtPHYB::LUC és az *AtPHYB::LUC* konstrukciók ritmikus aktivitása ilyen körülmények között is fennmarad, jelezve, hogy a megfelelő promóterek működését a cirkadián óra szabályozza. (Legújabb eredményeink szerint, amelyek nem képezik dolgozatom részét, az *AtPHYA::LUC* aktivitás ritmicitásának hiánya a PHYA promoter jellegzetes szövetspecifikus kifejeződésének köszönhető: kimutattuk, hogy kifejeződése csak a levelekben ritmikus, ahol az expresszió szintje a legalacsonyabb, így a teljes növény szintjén az amplitúdó olyan alacsony szintre csökken, amely már nem mutatható ki az alkalmazott módszerekkel.) Az LD és LL körülmények között megfigyelt *PHYB::LUC* ritmusok amplitúdója és periódushossza nagyon hasonló a kontrollként használt *CAB2::LUC* konstrukciók aktivitásának ritmusához. Sötétben viszont a *CAB2::LUC* ritmus gyorsan csillapodik, mivel fény hiányában a *CAB* gének transzkripciójának átlagos szintje is gyorsan csökken. Az a tény, hogy ez a *PHYB::LUC* konstrukciók esetében nem figyelhető meg, a *PHYB* gének relatív fény-független kifejeződésére utal, összhangban más, korábbi kísérletek adataival.

7. Megállapítottuk, hogy a *PHYB* gének promóter-aktivitásában felfedezett cirkadián jelleg érvényesül a mRNS felhalmozódásának, valamint a *NtPHYB* fehérje szintézisének szintjén is. (A *NtPHYB* szintézis folyamatát a *NtPHYB::NtPHYB-LUC* konstrukció aktivitása révén követtük, amelynek kifejeződése során egy *NtPHYB-LUC* fúziós fehérje termelődik a *NtPHYB* promóter irányítása alatt.) A *NtPHYB* protein Western-analízissel meghatározott felhalmozódása viszont nem mutatott cirkadián szabályozottságot. Ennek oka az lehet, hogy a stabil, ezért viszonylag nagy mennyiségben felhalmozódó *PHYB* fehérje-tömeg mellett a ritmikusan megjelenő új *PHYB* fehérjék az alkalmazott módszerrel nem mutathatók ki. Ezt az elképzelést támogatják azok a megfigyelések is, melyek szerint számos *PHYB*-függő fiziológiai válasz érzékenységének ideje egybeesik a *PHYB*-szintézis maximális sebességének általunk meghatározott idejével. Tekintve, hogy a gén-dózis vizsgálatok alapján a *PHYB*-szintézisének akár kétszeres növekedése (aminek meghatározása a *PHYB* fehérjék mennyiségének szintjén Western-analízissel szinte

lehetetlen) már jól mérhető fiziológiai válaszokat idéz elő, valószínű, hogy a PHYB fehérjeszint ritmikus változása fontos szereppel bír, létező folyamat, de kimutatása megfelelően érzékeny módszereket kíván. Eredményeink igazolják egy ún. input szabályozó kör létét a növényi cirkadián rendszerben is, melynek funkciója a oszcillátor működésének stabilizációja és a véletlenszerű beállító tényezők hatásának mérséklése lehet.

PUBLIKÁCIÓS LISTA

A dolgozathoz felhasznált cikkeket aláhúzás jelöli.

1. **Ádám, É., Kozma-Bognár, L.,** Dallmann, G., Nagy, F. (1995) The photoregulated expression of tobacco phytochrome A genes has three transcription start sites and requires multiple cis-acting regulatory elements. *Plant Mol. Biol.* 29:983-993.
2. **Ádám, É., Kozma-Bognár, L.,** Kolar, C., Schäfer, E., Nagy, F. (1996) The tissue-specific expression of a tobacco phytochrome-B gene. *Plant Physiol.* 110:1081-1088.
3. **Ádám, É., Kozma-Bognár, L.,** Schäfer, E., Nagy, F. (1997) Tobacco phytochromes: genes, structure and expression. *Plant Cell Environ.* 20:678-684.
4. Kircher, S., **Kozma-Bognár, L.,** Kim, L., Ádám, É., Schäfer, E., Nagy, F. (1999) Light quality and quantity dependent nuclear translocation of phyA and phyB photoreceptors in higher plants. *Plant Cell* 11:1445-1456.
5. **Kozma-Bognár, L.,** Hall, A., Ádám, É., Thain, S., Nagy, F., Millar, A. (1999) The circadian clock controls the expression pattern of the circadian input photoreceptor, phytochrome B. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 96:14652-14657.

6. Gil, P., Kircher, S., Ádám, É., Bury, E., **Kozma-Bognár, L.**, Schäfer, E., Nagy, F. (2000) Photocontrol of subcellular partitioning of phytochrome-B:GFP fusion protein in tobacco seedlings. Plant J. 22:135-145.
7. Lohrmann, J., Sweere, U., Zabaleta, E., Baurle, I., Keitel, C., **Kozma-Bognár, L.**, Brennicke, A., Schäfer, E., Kudla, J., Harter, K. (2001) The response regulator ARR2: a pollen-specific transcription factor involved in the expression of nuclear genes for components of mitochondrial complex I in *Arabidopsis*. Mol Genet Genomics 265:2-13.
8. Tóth, R., Kevei, É., Hall, A., Millar, A., Nagy, F., **Kozma-Bognár, L.** (2001) Circadian clock-regulated expression of phytochrome and cryptochrome genes *Arabidopsis*. Plant Physiol. 127:1607-1616.
9. Hall, A., **Kozma-Bognár, L.**, Tóth, R., Nagy, F., Millar, A. (2001) Conditional circadian regulation of *PHYTOCHROME A* gene expression. Plant Physiol. 127:1808-1818.

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.

Szeged, 2002. május 13.

Dr. Ádám Éva

.....

Dr. Nagy Ferenc

.....