

Phd tézis összefoglalása

***Synechocystis* sp. 6803 fém-indukálta promóterei és alkalmazásuk egész sejtes bioszenzor fejlesztésben**

Loredana Peca

Témavezetők:

Dr. Vass Imre és Dr. Kós Péter B.

MTA Syegedi Biológiai Központ
Növénybiológiai Intézet

Szeged

2009

BEVEZETŐ

A fémszennyezés napjaink egyre növekvő problémája, mely mind a vízi, mind a szárazföldi ökoszisztémákat érinti. A fémionok toxikus hatása a sejten belüli, biológiailag inaktív, használhatatlan fémionok túlzott felhalmozódásának eredménye. Az élő szervezetek ezt a sejten belüli ionszintek szigorú szabályozása révén igyekeznek elkerülni.

Minden élő szervezet rendelkezik a fémionok felhalmozódása ellen védelmet nyújtó rezisztencia mechanizmusokkal. Ezen mechanizmusok feltehetőleg az élet megjelenését közvetlenül követően alakulhattak ki, a mainál sokkal élénkebb vulkanikus aktivitás és egyéb geológiai folyamatok mellett [Silver és Phung (1996) *Annu Rev Microbiol* 50: 753]. A fő rezisztencia mechanizmusok: a sejtbetűtő toxikus ionok efflux pumpák által történő kijuttatása illetve az enzimatis detoxifikáció, melynek során a sejten belüli toxikus fémionok átalakulnak kevésbé toxikus változatokká. E folyamatok szabályzását általában a MerR vagy ArsR/SmtB családba tartozó, fémszabályzó (fémregulátor) fehérjék végzik.

A *Synechocystis* genomjának elemzése során [Kaneko et al. (1996) *DNA Res* 3: 10] tizenegy egymással szomszédos elhelyezkedésű gént azonosítottak, melyek fémtranszport fehérjék homológjait kódolják. Ezek a régiók hat transzkripciós egységet alkotnak: (i) a Ni^{2+} és Co^{2+} által indukált *nrsBACD* operon, melynek a szabályzásában a tőlük 5' irányban elhelyezkedő *nrsSR* operon géntermékei vesznek részt [García-Dominguez et al. (2000) *J Bacteriol* 182: 1507; López-Maury et al. (2002) *Mol Microbiol* 43: 247], (ii) Zn^{2+} indukálta *ziaA*, mely egy P₁-típusú ATP-áz Zn^{2+} efflux pumpát kódol, és az előtte elhelyezkedő gén terméke, a *ziaR*, [Thelwell et al. (1998) *PNAS* 95: 10728], valamint a (iii) Co^{2+} és Zn^{2+} indukálta *coaT*, ami egy P₁-típusú ATP-ázt, a Co^{2+} transzlokátort kódolja, és a tőle 5' irányban található *coaR* gén termékének szabályozása alatt áll. [Rutherford et al. (1999) *J Biol Chem* 274: 25827; García-Dominguez et al. (2000) *J Bacteriol* 182: 1507]. A *Synechocystis* arzén rezisztenciáját az *arsBHC* operon kódolja. A *arsBHC*

operon indukciójéért a $As^{5+}/As^{3+}/Sb^{3+}$ a felelős, míg expressziója az ArsR represszor protein szabályozása alatt áll. A CoaT és ZiaA mellett a *Synechocystis*-nek két másik P1-típusú ATP-áza is van, a CtaA és PacS, melyek valószínűleg réz kation transzporterek, és a plazma membránban vagy a thylakoid membránban helyezkednek el [Tottey et al. (2001) *J Biol Chem* 276: 19999]. Az Atx1 fémkötő fehérje kölcsönhatásban van a CtaA és PacS aminoterminális doménjeivel, és szerepe lehet a Cu^{2+} transzportban a tilakoid felé [Borelly et al. (2004) *Biochem J* 378: 293; Tottey et al. (2002) *J Biol Chem* 277: 5490].

A *Synechocystis* genomjában két gén található, melyek a kromát ion transzporter (CHR) szupercsaládot kódolják [Díaz-Pérez et al. (2007) *FEBS J* 274: 6215]: a *slr5038*, a pSYSM plazmidon található, és a kromoszomálisan kódolt *chrA*. A szupercsalád mindössze két tagjának szerepe tisztázott. Ezek a membrán proteinek kromátot pumpálnak ki a citoplazmából a proton-pumpák segítségével, ezáltal biztosítva a kromát rezisztenciát [Alvarez et al. (1999) *J Bact* 181: 7398; Pimentel (2002) *FEMS Microbiol Lett* 212: 249]. A *Synechococcus* sp. PCC 7942-ben a szupercsalád egy másik tagja, a pANL plasmid által kódolt SrpC. Ismeretes, hogy a pANL plazmidnak szerepe van a kén éhezéshoz való alkalmazkodásban. A *srpC* inaktivált mutáns alacsony szulfáttartalmú médiumon tenyésztve magasabb kromát rezisztenciát mutatott [Nicholson és Laudenbach (1995) *J Bact* 117: 2143]. Az egyik hipotézis szerint a CHR proteinek kromát/kén antiport folyamatokat bonyolítanak le, és a sejten belül felhalmozódott kromátot a környezetből származó szulfáttal helyettesítik; ha alkalmanként a tenyésztő közegben a szulfát koncentráció alacsonyabb, mint a kromát koncentrációja, az antiporter kromát felvevő rendszerként működik, és ez a magyarázata az *srpC* mutáns kromát rezisztenciájának. [Nies (1998) *J Bact* 180: 5799].

Keveset tudunk a prokarióták fémion felhalmozódásra adott transzkripciós válaszreakcióiról. A modellünk, a *Synechocystis* sp. PCC 6803 esetében egyetlen DNS microarray tanulmány látott napvilágot, ami a Cd^{2+} , Zn^{2+} és Fe^{2+} által indukált génexpressziót vizsgálta [Houot et al. (2007) *BMC Genomics* 8: 350].

Vannak specifikus stressz gének, melyek egy specifikus stresszre adnak választ, és vannak általános stressz gének, melyek több, különböző stressz faktorra reagálnak. A shock proteinek (pl. *hspA*) és a proteázok génjei az általános stressz gének csoportjába tartóznak, indukáló tényezők: az oxidatív stressz, hiperozmózis, hő, só, UV-B, és fény, de a hideg stressz nem indukáló hatású.

Az elmúlt két évtizedben számos egész sejtes bioszenzort hoztak létre bakteriális fémion-rezisztencia géncsaládok alkalmazásával. Ezek genetikailag módosított baktériumok, melyekben fémionok jelenlétére érzékeny szabályzás alatt álló, jól detektálható fehérjék fejeződnek ki. Mivel ezek képesek érzékelni a környezetükben jelenlevő fémeket, a hagyományos analitikai kémiai módszerek mellett alternatív megoldást jelentenek. Legnagyobb előnyük mégis az, hogy jóval kisebb mennyiségű fém ionra is reagálnak, vagyis egy szennyezett környezet pontosabban kiértékelésre képesek.

A fotoautotróf cianobaktériumok nagy előnye a heterotróf mikroorganizmusokkal szemben, hogy sokkal olcsóbb az előállításuk, és tenyésztésük. A *Synechocystis* teljes genomtérképe ismert, és természetes módon transzformálható, ezért megfelelő az egész sejtes bioszenzorként való alkalmazásra.

CÉLKITŰZÉSEK

A vizsgálataink fő céljai a következők voltak:

I. Biológiai szempontból jelentős koncentrációjú Co^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Cd^{2+} , Cr^{6+} , Cr^{3+} , As^{3+} , As^{5+} , és Cu^{2+} ionoknak, rövid ideig kitett *ziaA*, *coaT*, *nrsB*, *arsB*, *chrA*, *artT*, *pacS*, *atx1*, és *ctaA* gének transzkript szintjének elemzése. Ezek a gének bizonyítottan vagy vélhetőleg részt vesznek a fémionok transzportjában.

II. Két, teljes sejtes biolumineszcens szenzor aktivitásának és környezeti mintáknál való alkalmazhatóságának jellemzése. Ezek előzőleg, a $\text{Co}^{2+}/\text{Zn}^{2+}$ által indukálható O/P_{coaT} (a *coaT* operátor-promóter régiója) vagy a $\text{Ni}^{2+}/\text{Co}^{2+}$ által indukálható $O/P_{nrsBACD}$ és a promóter nélküli luxAB reporter gének egyesítésével lettek létrehozva a laborunkban. Ugyanezen elv alapján egy arzén bioszenzor létrehozása, amelyben az $\text{As}^{3+}/\text{As}^{5+}/\text{Sb}^{3+}$ által indukálható O/P_{arsBHC} és a promóter nélküli luxAB reporter gének kerülnek egyesítésre.

III. A feltételezeten egy kromát-transzportert kódoló *slr5038* gén működésének vizsgálata, amelyről kimutattuk, hogy As^{3+} által, vagy alacsony szulfát tartalmú tápközegben Cr^{6+} által indukálódik.

IV. Megtalálni a Cd^{2+} , Ni^{2+} , As^{3+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , és Cu^{2+} koncentrációk azon tartományait, amelyekben a *Synechocystis* sejtekben ion-specifikus válaszreakció alakul ki, illetve amelyek általános és oxidatív stresszel jellemezhető állapotot hoznak létre.

MÓDSZEREK

Nevelési körülmények és fémsó kezelés

A *Synechocystis sp. PCC 6803* vad típus és mutáns változatai 20 mM HEPES-szel (pH 7.5) kiegészített BG-11 tápoldatban [Rippka et al. (1979) *J Gen Microbiol* 111: 1] neveltem, 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fényben, 30 °C hőmérsékleten és CO₂-dal dúsított (3%) légtérben, 120 rpm rázás mellett. Szükség esetén a tápoldat különböző antibiotikumokat is tartalmazott. A kezeléseket ZnSO₄, CdCl₂, NiCl₂, CoCl₂, NaAsO₂, KH₂AsO₄, CuSO₄, Cr₂(SO₄)₃ vagy Na₂CrO₄-tal kiegészített BG-11 tápoldatokban végeztem.

Fémionok többlete által okozott növekedési gátlás

A cianobaktérium tenyészetek növekedését a 720 nm-en, 3-4 napon keresztül mért optikai sűrűségük mérésével követtem. Mindegyik fémionra vonatkozóan meghatároztam kétféle gátlási paramétert: a minimális gátló koncentráció (IC_{min}) és a maximális gátló koncentráció (IC_{max}). A IC_{min} a legalacsonyabb, növekedést gátló koncentrációt jelöli, a IC_{max} pedig az a legmagasabb koncentráció, amelynél már további növekedés nem figyelhető meg.

Nukleinsav-kivonás és kvantitatív real-time PCR vizsgálat

Az össz-RNS izolálására a forró fenolos módszert [Mohamed és Jansson (1989) *Plant Mol Biol* 13: 693] alkalmaztam, 20 ml, exponenciális növekedési fázisú *Synechocystis* tenyészetből. A reverz transzkripciók és a kvantitatív real-time PCR vizsgálatok a “High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit and Power SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems)” útmutatásainak megfelelően lettek végrehajtva. Az oligonukleotidok a “Primer Express 2.0 software (Applied Biosystems)” segítségével lettek megtervezve. A génexpresszió relatív változásait a delta-delta C_T módszer [Applied Biosystems (2001) User Bulletin #2: 11] segítségével számoltam ki, és az értékek az RNase P, B alegységét kódoló *mpB* gén expressziós értékeihez normáltam.

Bioreporter sejtvonalak előállítása

A laborunkban két bioreporter már korábban elkészült: *nrsLux* és *coaLux* [Peca et al. (2008) *FEMS Microbiol Lett* 289: 258]. Az *arsLux* bioreporter kialakítása érdekében az *arsBHC* kódoló régiójától 5' irányban elhelyezkedő *O/P_{arsBHC}* és a *sl10914*, 5' vége került a pND6luxAB vektorban lévő, promóter nélküli *luxAB* luciferáz gén promóter régiójába. Az így keletkezett konstrukcióval olyan *Synechocystis* sejtvonalat transzformáltam, amely tartalmazta a *luxCDE* luciferáz szubsztrát gént, valamint egy spektinomycin-rezisztencia kazettát. A fenti konstrukció egy kloramfenikol-rezisztencia kazettával együtt, homológ rekombináció útján, a kromoszóma semleges *ss10410* helyére épült be.

Biolumineszcencia-elemzés

A fémsós kezeléseket 96 lukú, fekete mikrotiter lemezekben végeztem, egyenként 300 μL térfogatban. A *arsLux* reporter sejtvonala esetében a lemezeket, fényben ($40 \mu\text{mol foton m}^{-2} \text{s}^{-1}$) vagy sötétben, 3 vagy 18 órán keresztül inkubáltam. A lumineszcencia intenzitását Top Count NXT luminométer (Packard Instruments) segítségével határoztam meg.

A környezeti minták savas kivonása

A vizsgálathoz használt talajszerű anyagot különböző, kémiai és olajiparból származó hulladék alkotja. A minták egy bauxit-tároló telepről származnak. A komposztáló halmokból gyűjtött minták ki lettek szárítva, és egy 2 mm-es lyukátmérőjű szitán át lettek szitálva. Ahhoz, hogy fel lehessen mérni a cserélhető, savoldékony Ni^{2+} , Co^{2+} és Zn^{2+} részecskék mennyiségét, az anyag egy egylépéses sav-kivonásnak lett alávétve, a [Bódog et al. (1996) *Int J Environ An Ch* 66:79] által leírt módszer szerint. A fémkoncentrációt egy atomabszorpciós spektrofotométer segítségével határozták meg (Perkin-Elmer model 3110).

EREDMÉNYEK

I. Bioszenzorok előállításához olyan potenciális promoterrégiókat választottunk, amelyek bizonyítottan vagy feltételezhetően fémionok transzportjában vesznek részt a *Synechocystis*-ben: (i) P₁-típusú ATPázokat kódoló géneket, amelyek Zn²⁺ (*ziaA*), Co²⁺ (*coaT*) és Cu²⁺ (*ctaA*, *pacS*) szállításában vesznek részt, (ii) *atx1*, ami egy Cu²⁺ chaperont kódol, (iii) *slr5038* (ezt *artT*-nek neveztük el) és *chrA*, aminek a króm szállításában van szerepe, (iv) *nrsB*, ami egy feltételezett Ni-transzportert kódol és (v) *arsB*, aminek As³⁺ szállításában lehet szerepe. Real-time PCR-rel követtem a fenti gének kifejeződésének mértékét. A génexpresszió kiváltásához az alábbi nehézfémek IC_{min} és IC_{max} közötti koncentrációját használtam: Co²⁺, Zn²⁺, Ni²⁺, Cd²⁺, Cr³⁺, Cr⁶⁺, As³⁺ és As⁵⁺. Azt találtam, hogy a maximális génexpresszió már 15 perc kezelés után megfigyelhető és az expresszió szintje nem változott a következő 45 percen belül. Az *arsB*, *nrsB*, *coaT* gének expressziós mintázatát az alábbi táblázatban foglaltam össze:

Gén neve	Fémion	Az indukció csúcserőke (átlag érték)	A maximális indukciót kiváltó nehézfémkoncentráció intervalluma
<i>arsB</i>	As ³⁺	1000	500–3500 µM
	As ⁵⁺	80	2–47 mM
<i>nrsB</i>	Ni ²⁺	700	1–27 µM
	Co ²⁺	5	4–32 µM
<i>coaT</i>	Zn ²⁺	300	32 µM
	Co ²⁺	20	2–32 µM
<i>ziaA</i>	Zn ²⁺	45	2–16 µM
	Cd ²⁺	13	2–16 µM

Azt találtam, hogy a Zn^{2+} mellett a Cd^{2+} -kezelés hatására is erősen indukálódik a *ziaA* gén. Mivel a P_1 -típusú ATP-ázok specifikusak azokra a fémekre amelyeket szállítanak [Liu et al. (2002) *J Bacteriol* 184: 5027], úgy tűnik a Cd^{2+} nem véletlenszerűen indukálja a gént, hanem a ZiaA ATP-áz ennek specifikus transzportere.

Annak ellenére, hogy a *ctaA*, *pacS* és *atx1* gének termékei mind a réz szállításában játszanak szerepet, a Cu^{2+} ionoknak IC_{min} - IC_{max} közötti koncentrációja nem okozott változást ezen transzkriptumok mennyiségében rövid inkubációs idő alatt. Ezért a *pacS* gén szabályozásának a *Synechococcus* homolog génjétől eltérő módon kell történnie, ugyanis az útbőbinál a génkifejeződés és fehérjeszintézis mértéke a rézkoncentráció függvényében változott [Kanamaru et al. (1994) *Mol Microbiol* 184: 5027].

II. Jellemeztam a korábban a laborunkban előállított *coaLux* és *nrsLux* biolumineszcens teljes sejt rendszerű bioriportereket, és optimalizáltam a felhasználásuk módját. Mind a *coaLux* mind pedig az *nrsLux* törzsek fiziológiás válasza a tápoldatba adagolt fémionok koncentrációjától függött. A *coaLux* 0.3–6.4 μM Co^{2+} illetve 1–3.2 μM Zn^{2+} koncentráció tartományban adott mérhető lumineszcenciát. A Zn^{2+} -függő lumineszcencia-görbe alakja és az adott koncentráció intervallum összhangban áll Erbe és munkatársai [(1996) *J Ind Microbiol* 17: 80]. *Synechococcus smt-luxCDABE* rendszerein végzett méréseivel. A *coaLux* bioreporter működését egy vegyi- és ipari hulladékokat tartalmazó szennyezett talaj mintában is megvizsgáltam: a *coaLux* törzs a Zn^{2+} atomabszorpciós spektrometriával meghatározott koncentrációjának 92%-át mutatta ki.

Az *nrsLux* bioreporter 0.2–8 μM közötti Ni^{2+} -koncentrációban mutat mérhető lumineszcenciát. Mivel a cink és a nikkelt gyakran együtt fordulnak elő szennyezett talajokban, az *nrsLux* bioreportert vegyesen (Zn^{2+} és Ni^{2+}) szennyezett minta esetében is kipróbáltam. A Zn^{2+} koncentráció-függő módon csökkentette a Ni^{2+} -indukált biolumineszcenciát; 8 μM Ni^{2+} koncentrációnál 6 μM Zn^{2+} a felére

csökkentette a mért jelet (IC_{50}). Minthogy az *nrsLux* bioszenzor érzékenysége az ivóvizekből kimutatható, az Egészségügyi Világszervezet (WHO) által előírt Ni^{2+} koncentráció ($0.07 \text{ mg/L} = 1.19 \text{ } \mu\text{M}$) értékével azonos nagyságrendbe esik, ez a bioszenzor felhasználható az ivóvizek nikkellel való szennyezettségének kimutatására azzal a feltétellel, hogy a kísérő cink koncentráció nem túl magas. Mivel a vezetékes ivóvíz cink tartalma ritkán haladja meg $0.15 \text{ } \mu\text{M}$ -os koncentrációt – ami amúgy is 70-szer kisebb mint a Zn^{2+} IC_{50} – ez nem jelent komoly hátrányt. A *coaLux* és *nrsLux* bioreporterek lumineszcencia választását is megvizsgáltam. Fény hiányában a *coaLux* bioreporter lumineszcencia maximuma mindkét fémionnál mintegy négyszer magasabb koncentrációnál jelentkezett, és ez a Co^{2+} ionnál 65%-a, Zn^{2+} ionnál 50%-a volt a fényben mért értékeknek. A *nrsLux* bioreporter törzs az alkalmazott Zn^{2+} -koncentrációk mellett nem mutatott lumineszcenciát fény hiányában, amire mindeddig nem találtunk magyarázatot.

Létrehoztunk egy As^{3+}/As^{5+} -szenzitív *arsLux* bioreportert is, ami As^{3+} és As^{5+} ionokra egymástól nagyon eltérő koncentrációknál adott válaszreakciót. $8 \text{ } \mu\text{M}$ és $500 \text{ } \mu\text{M}$ As^{3+} koncentráció között a biolumineszcencia értéke az ionkoncentráció növekedésével lineárisan változott. As^{5+} -ionnál a biolumineszcencia mértéke lassan nőtt 2.3mM és 10mM As^{5+} között, majd gyorsabban 150mM As^{5+} -ig, ami a legmagassabb tesztelt koncentrációérték volt. Az arzén igen gyakori szennyezőanyaga a talajvíznek; sokszor meghaladja az Egészségügyi Világszervezet (WHO) által jóváhagyott $10 \text{ } \mu\text{g/l}$ ($0.13 \text{ } \mu\text{M}$) koncentrációt. Jó példa erre, hogy 11 magyarországi településen az arzénkoncentráció eléri az $50 \text{ } \mu\text{g/l}$ ($0.65 \text{ } \mu\text{M}$) átlagértéket [Jones és mtsi. (2008) *Rev Environ Contam Toxicol* 197: 163], sőt, esetenként akár $560 \text{ } \mu\text{g/l}$ ($7.3 \text{ } \mu\text{M}$) maximális értéket is [Csalagovics (1999) *Annu Rep Geol Inst Hung II*: 85]. Az *arsLux* bioreporter további optimalizációt igényel annak érdekében, hogy a fent említett esetekben közvetlenül felhasználható legyen.

III. Kimutattam, hogy az *artT* gén a szomszédos *slr5037* (általunk *artC*-nek elnevezett) génnel együtt íródik át. Az *artT* egy feltételezett krómtranszportert kódoló gén a CHR géncsaládból, az *artC* pedig egy konzervált, hipotétikus fehérje. Az *artCT* operon előtt találhatóak az ellentétes irányban átírt *sll5036* és *sll5035* gének (ezeket *artS*-nek és *artR*-nek neveztük el). Az előbbi egy feltételezett szulfidkinon reduktazt kódoló gén míg az utóbbi az SmtB/ArsR családba tartozó transzkripciós represszorokkal mutat homológiát. Az a tény, hogy ezek a transzkripciós represszorok fémek érzékelésében vesznek részt valamint az, hogy az *artR* az *artCT* operon közelében helyezkedik el az ellenkező irányban, arra enged következtetni, hogy *artR* egy represszort kódoló gén, ami az *artCT* operon kifejeződését szabályozza. Az *artR* és *artT* génekbe kanamicin-rezisztenciát kiváltó marker gént klónoztunk, inszerciós mutánsokat hozva létre. Az *artR::Kan* mutáns az *O/P_{artC}* konstitutív derepresszióját eredményezte, ami részben megerősítette feltételezéseinket. Azt találtuk, hogy az *artCT* operon As^{3+} ionok valamint kromát ionok hatására indukálódik. A vad típushoz viszonyítva az *artT::Kan* mutáns jóval rezisztensebbnek mutatkozott az As^{3+} -al szemben de króm jelenlétében is jobban nőtt, ha lecsökkentettem a tápoldat szulfát tartalmát 10 μ M-ra (ami 30-szor kisebb, mint a normál BG-11 oldatban). Az *artR::Kan* mutáns a vad típusnál érzékenyebbnek bizonyult As^{3+} -jelenlétében. Mindezt egybevetve arra következtethetünk, hogy az ArtT króm/szulfát antiporterként működik. Alacsony szulfát koncentrációnál az antiporter krómot vesz fel, ez a magyarázata az *artT* mutáns krómmal szembeni rezisztenciájának. A genomban való elhelyezkedés alapján a CHR proteineknek a krómtranszport mellett egyéb élettani szerepe is valószínűsíthető [Díaz-Pérez és mtsai. (2007) *FEBS J* 274: 6215].

IV. Meghatároztuk a Cd^{2+} , Ni^{2+} , As^{3+} , Zn^{2+} , Co^{2+} és Cu^{2+} esetében azokat a koncentráció intervallumokat amire a sejtek specifikusan válaszolnak, valamint azokat a koncentrációkat, amelyeknél már általános- illetve oxidatív stresszválaszt tapasztalunk. Nyomon követtük ezen fémionok specifikusan indukálható génjének expresszióját (kivéve a Cu^{2+} -ét, amelynél nem ismert ilyen gén), és a

szakirodalomból ismert általános- vagy oxidatív stressz-indukált, következő génekét: *isiA* (vas-stressz klorofill-kötő protein), *perR* (Fur család transzkripciós regulátor), *sigD* (2-es csoport RNS polimeráz szigma factor), *hspA* (16.6-kDa kis hősokk fehérje), *dnaJ* (DnaJ-típusú fehérje), *ahpC* (AhpC-peroxiredoxin), *lilA* (fény-begyűjtőszerű fehérje) és *nblA1* (fikobiliszóma lebontó protein). Az eredményeket az alábbi táblázat összegezi :

Fém ion	Specifikus válasz	Általános és oxidatív stresszválasz
Cd ²⁺	2 µM	8 µM
Ni ²⁺	5 µM	10 µM
As ³⁺	80–720 µM	2 mM
Zn ²⁺	4 µM	16 µM
Co ²⁺	1 µM	–
Cu ²⁺	–	1.25 µM

A tesztelt maximális 32 µM Co²⁺-ig semmilyen lényeges stresszválaszt nem tapasztaltunk. A kis hősokk proteint kódoló *hspA* gén mindegyik fém esetében erősen kiejeződött az IC_{max}-körüli koncentrációnál. A már előzőleg kimutatott [Singh et al. (2003) *Plant Physiol* 132: 1825], vas hiány esetében aktiválódó IsiA klorofill-kötő fehérje a Ni²⁺-által is indukálódik.

PUBLIKÁCIÓK LISTÁJA

Peca L, Kós PB, Vass I (2007) Characterization of the activity of heavy metal-responsive promoters in the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6803. *Acta Biol Hung* 58: 11-22.

IF: 0.688

Peca L, Kós PB, Máté Z, Farsang A, Vass I. (2008) Construction of bioluminescent cyanobacterial reporter strains for detection of nickel, cobalt and zinc. *FEMS Microbiol Lett* 289: 258-264.

IF: 2.021

(ezek a publikációk közvetlenül kapcsolódnak a dolgozat témájához)

POSZTEREK

Peca L, Kós PB, Vass I (2006) Regulation of zinc, cobalt and chromium responsive genes in the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6803. 12th International Symposium on Phototrophic Prokaryotes. Pau, France, August 27-September 1st.

Peca L, Kós BP, Vass I (2008) Development and utilisation of two bioluminescent reporter strains of *Synechocystis* PCC 6803 for detection of Ni²⁺, Co²⁺ and Zn²⁺ contaminants. ESF-EMBO Symposium-Molecular Bioenergetics of Cyanobacteria: Towards systems biology level of understanding, San Feliu de Guixols, Spain, March 29-April 3rd.

ELŐADÁSOK

Peca L (2005) Quantitative analysis of *Synechocystis* sp. PCC 6803 gene expression in heavy metal stress. Genomics and Bioinformatics: Exploiting Microarrays in Plant Physiology, European Networking Summer School, Ljubljana, Slovenia, 22-31 August

Peca L (2005) Quantitative analysis of *Synechocystis* sp. PCC 6803 gene expression in heavy metal stress. EMBO Practical Course on Analysis and Informatics of Microarray Data, Cambridge, UK, 3-9 April