



Ph.D. értekezés tézisei



A bakteriális antibiotikum rezisztencia *de novo* evolúciója és járulékos következményei

Spohn Réka

Témavezető: Dr. Pál Csaba

Biológia Doktori Iskola, SZTE-TTIK

MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biokémiai Intézet

Szeged

2018.

Bevezetés

Az antibiotikumok terápiás alkalmazása rendkívül sokat járult hozzá a várható életkor növekedéséhez. Antibiotikumok nélkül nem csupán a bakteriális fertőzéseket nem tudnánk kezelni, hanem ellehetetlenülnének a rákterápiás kezelések, a transzplantációk és más immunszuppressziós eljárások, az invazív sebészeti beavatkozások, valamint a koraszülöttek ellátása is. Nem kell messzire mennünk, hogy szembesüljünk az antibiotikumok hiányának tragikus következményeivel: az erőforrás hiánnyal küszködő országokban a bakteriális fertőzések okozzák a második legtöbb halálesetet, s a gyermekhalálozások 60%-áért a bakteriális fertőzések felelősek. Az antibiotikum rezisztencia terjedése által okozott közegészségügyi kockázatot tehát nem lehet eleget hangsúlyozni.

Annak ellenére, hogy az antibiotikum rezisztencia jelensége régóta ismert, a rezisztencia kialakulásának folyamatáról és járulékos hatásairól korlátozottak az ismereteink. Az antibiotikum rezisztencia evolúcióját gyakran segítik az antibiotikum terápia során a bakteriális genomban felhalmozódó mutációk. Ezen mutációk felhalmozódása az első lépéseként szolgálhat a nagymértékű, klinikumban is megfigyelhető szintű rezisztenciát biztosító specifikusabb rezisztencia mechanizmusok megjelenésének. Ezek a rezisztencia mutációk ugyanakkor potenciálisan befolyásolhatják a baktérium érzékenységét számos más antibiotikummal szemben is. Ezeket a járulékos hatásokat nevezzük evolúciós kölcsönhatásoknak. Amennyiben az adott rezisztencia mutáció több más antibiotikumra is rezisztenciát okoz, keresztrezisztenciáról vagy multidrog rezisztenciáról beszélünk. Abban a rendkívül izgalmas esetben azonban, amikor az adott rezisztencia mutáció egy másik antibiotikummal szemben fokozott érzékenységet (hiperszenzitivitást) okoz, járulékos érzékenységről (kollaterális szenzitivitásról) beszélünk. Ez utóbbi jelenséget egy körülbelül 60 évvel ezelőtti úttörő munkában publikálták először. Ebben az úttörő munkában az akkori laboratóriumi lehetőségek ellenére rendszerszinten vizsgálták 15 antibiotikum evolúciós kölcsönhatásait. A kísérlet során elsősorban az antibiotikumok hatásmechanizmusai közötti hasonlóságokat és eltéréseket célozták vizsgálni.

Az egyértelmű klinikai relevancia ellenére az antibiotikumok evolúciós kölcsönhatásait a több, mint 60 éve elvégzett úttörő fenomenológiai vizsgálatot leszámítva egészen a közelmúltig senki nem vizsgálta. Az úttörő vizsgálatot követő további mikrobiológiai vizsgálatok hiánya két okból is meglepő: egyrészt már korábban is felismerték, hogy az antibiotikum rezisztencia fitness költséggel jár stresszmentes környezetben; másrészt a hiperérzékenységet, más néven járulékos érzékenységet széleskörűen vizsgálták már rák kemoterápiás kutatásokban. A közelmúlt technológiai fejlődése a laboratóriumi automatizáció és a teljes-genom szekvenálás területén lehetővé tette a járulékos érzékenység rendszerszintű vizsgálatát. Ennek köszönhetően jelen tanulmányunk számos rendszerszintű vizsgálatot jelent meg szoros egymásutánban, s jelenleg is számos kutatás fókuszál a járulékos érzékenység klinikai hasznosíthatóságának lehetőségeire.

Célkitűzések

Munkám céljaként azt tűztük ki, hogy választ adjunk napjaink egyik legsürgetőbb kihívására, miszerint megértsük, milyen genetikai változások jönnek létre a *de novo* antibiotikum rezisztencia evolúciója során, valamint ezek az adaptív változások hogyan befolyásolják az adott baktérium érzékenységét más antibiotikumokkal szemben. Ezen evolúciós kölcsönhatások rendszerszintű vizsgálatának elvégzéséhez a következő részfeladatokat tűztük ki:

- Az antibiotikum rezisztencia evolúciót meghatározó evolúciós hajtóerők vizsgálata nagyléptékű laboratóriumi evolúciós kísérlet, valamint teljes-genom szekvenálás segítségével, *Escherichia coli* baktériumban.
- A keresztrezisztencia és járulékos érzékenység kölcsönhatások feltérképezése 12 klinikailag releváns, változatos hatásmechanizmusokat képviselő antibiotikum között egy saját fejlesztésű, nagy átteresztőképességű antibiotikum érzékenységi szűrés segítségével.
- Az evolúciós és a fiziológiás antibiotikum kölcsönhatások közötti összefüggések vizsgálata.
- A keresztrezisztencia kapcsolatok mintázatát meghatározó legfőbb irányelvek megértése.
- A járulékos érzékenység jelenségének hátterében álló molekuláris mechanizmusok részletes feltárása biokémiai vizsgálati módszerek használatával. Annak feltárása, hogy milyen gyakori a járulékos érzékenység és kihasználható-e a klinikai alkalmazásban?

Módszerek

Laboratóriumi evolúciós kísérlet. Az evolúció során az *Escherichia coli* K12 BW25113 baktérium párhuzamos populációit adaptáltattuk 12 antibiotikum egyikének növekvő koncentrációjával szemben úgynevezett „batch” kultúrában, 24 óránként a populáció 1%-át friss tápoldatba oltva. Antibiotikumonként 96 párhuzamos populációt indítottunk, s az evolúciós kísérletet addig folytattuk, míg a 96-ból minimum 10 párhuzamos populáció mutatott növekedést vagy el nem értük az adott antibiotikum oldhatósági határát. A párhuzamos populációk kihalási dinamikájától és az oldhatósági határtól függően az evolúciós kísérlet körülbelül 240-384 generáción át tartott.

Teljes genom szekvenálás. A kiindulási törzset (*Escherichia coli* BW25113) és 63 adaptált vonalat új-generációs (SOLiD) szekvenálásnak vetettük alá, hogy felderítsük a rezisztencia hátterében álló mutációkat. A teljes-genom szekvenálást, a nyers szekvencia adatok elemzését, majd az azt követő adatelemzési validálást a Szegedi Biológiai Kutatóközpont Szekvenáló Platformja végezte, Dr. Nagy István szakmai vezetésével. A teljes-genom szekvenálás nyers eredményei az NCBI BioProject adatbázisban elérhetőek (Accession: PRJNA248327 ID: 248327).

Mutációs ráta mérése fluktuációs teszttel. A mutációs ráta meghatározására a rifampicin rezisztencia megjelenési gyakoriságán alapuló Luria-Delbrück féle fluktuációs tesztet alkalmaztuk. A mutációs ráta meghatározását kollégám, Dr. Méhi Orsolya végezte el.

Az antibiotikum rezisztencia spektrum nagy áteresztőképességű szűrése. A nagy áteresztőképességű szűrés során a laboratóriumi evolúciós kísérlettel létrehozott 120 párhuzamos adaptált vonal érzékenységbeli változásait (keresztrezisztenciáját és járulékos érzékenységet) vizsgáltuk az adott vonal által még nem ismert 11 másik antibiotikummal szemben. Az összesen 1320 (120*11) adatpont feltérképezésének céljával létrehoztunk egy nagy áteresztőképességű szűrést és egy robusztus statisztikai eljárást.

Az adaptált vonalak relatív fitness értékének megállapítása. A 120 párhuzamos adaptált vonal fitness költségének megállapítását az antibiotikum rezisztencia spektrum nagy áteresztőképességű szűrése során végeztük el olyan módon, hogy a 12 antibiotikum mellett a mérést antibiotikum-mentes tápoldatban is elvégeztük.

Kémiai hasonlósági vizsgálatok. A kémiai hasonlóságot az általunk alkalmazott Tanimoto koefficiens a kémiai „ujjlenyomatok” (chemical fingerprint) hasonlóságában méri. A kémiai hasonlóság számolását kollégám, Györkei Ádám végezte el.

Kemogenomikai profil hasonlósági vizsgálatok. A kemogenomikai hasonlóság kiszámításához a Girgis és munkatársai által korábban azonosított, az antibiotikum érzékenységet befolyásoló gének szettjeinek páronkénti Jaccard hasonlósági koefficiensét számoltuk ki. Ez a kemogenomikai szűrés 9 antibiotikumot lefedett az általunk vizsgált 12 antibiotikumból. A kemogenomikai hasonlóság számolását kollégám, Dr. Lázár Viktória végezte el.

Egyedi mutánsok létrehozása. Az antibiotikum rezisztencia és az evolúciós kölcsönhatások molekuláris hátterének megértése céljából kiválasztottunk 9 olyan mutációt, melyeknek kulcs szerepe lehet a rezisztencia és az evolúciós kölcsönhatások kialakításában, és ezeket a mutációkat külön-külön visszaillesztettük a vad típusú kiindulási törzsbe. A mutációk visszaillesztését öngyilkos (suicide) plazmidon alapuló marker- és „hegmentes” (scarless) módszerrel végezte el kollégám, Dr. Csörgő Bálint.

Bakteriális membránpotenciál mérése. A különböző antibiotikum rezisztencia mechanizmusok membránpotenciálra gyakorolt hatásának vizsgálatához antibiotikumként két-két adaptált vonalat választottunk ki véletlenszerűen. A membránpotenciál mérését a BacLight Bacterial Membrane Potential Kit felhasználásával áramlási citométeren végeztük el.

Hoechst akkumulációs mérés. Az adaptált vonalak membrán permeabilitásának változásait a Hoechst fluorescens festék (H33342 bisbenzimid) intracelluláris akkumulációján alapuló, felskálázható méréssel vizsgáltuk.

Minimális gátló koncentráció (MIC) mérése hígítási soron. Az MIC méréseket általában egy standard lineáris hígítási soron alapuló technikával végeztük. A mérések pontosságának és reprodukálhatóságának maximalizálása érdekében a 11 lépéses hígítási sorok elkészítéséhez robotizált folyadékkezelő rendszert használtunk.

Minimális gátló koncentráció (MIC) mérése E-teszt csíkok segítségével. Az e-teszt inokulum előkészítés és szélesztés, a csík elhelyezése és az MIC meghatározása a gyártó leírása alapján történt.

AcrAB efflux pumpa overexpressziós és deléciós vizsgálatok. Az AcrAB efflux rendszer az evolúciós kölcsönhatásokban betöltött szerepének vizsgálata céljából 3 különböző törzset módosítottunk az alábbiak szerint: egyik esetben az *acrB* gént deletáltuk P1 transzdukciós módszerrel, a másik esetben pedig az AcrAB efflux pumpát kódoló multicopy plazmidot (pUCacrAB) transzformáltuk ezekben a törzsekbe. A pUCacrAB plazmidot Dr. Kunihiro Nishino és Dr. Akihito Yamaguchi biztosította számunkra (Osaka University, Osaka, Japan).

Eredmények

I) Nagyléptékű laboratóriumi evolúciós kísérlet az egyes antibiotikumokkal szemben magas rezisztenciával rendelkező törzsek létrehozására. A kísérlet során egy közös ősből (*Escherichia coli* BW25113) kiindulva, a 12 kiválasztott antibiotikum egyikének fokozatosan növekvő koncentrációjú jelenlétében 96-96 párhuzamos populációt növesztettünk úgynevezett „batch” kultúrában. Az antibiotikum koncentrációjának fokozatos növelését szigorúan betartva a kísérletet addig folytattuk, amíg minimum 10 párhuzamos populáció növekedni tudott az adott antibiotikum jelenlétében, vagy amíg az adott antibiotikum oldhatósági határát el nem értük. Végül a laboratóriumi evolúció 240-384 generáción át tartott, ám a rövid időtartam ellenére nagyon magas, akár 328-szoros minimális gátló koncentráció (MIC) feletti értékig értünk el az alkalmazott antibiotikumok koncentrációjában, melyen a párhuzamosan adaptált vonalak még növekedni tudtak.

II) Az adaptív mutációk domináltak a laboratóriumi evolúcióval létrehozott antibiotikum rezisztens vonalakban. Számos bizonyíték utal arra, hogy a fehérje kódoló régiókban azonosított mutációk megjelenését az antibiotikum által okozott szelekciós nyomás vezette. Egyrészt a pontmutációk 87%-a nem csendes (szinoním) mutáció volt, azaz a kódolt aminosav megváltozásához vezetett. Másrészt pedig az adaptált vonalakban azonosítottunk számos olyan mutációt, mely nem csupán a gén szintjén, hanem a mutáció által okozott aminosav szubsztitúció szintjén is megegyezett az irodalomban leírt környezeti vagy klinikai rezisztens izolátumokban azonosított rezisztencia mutációkkal. Ez utóbbi eredmény azért is rendkívül fontos, hiszen bemutatja, hogy a klinikumban előforduló genomi rezisztencia mutációk egy része előjelezhető egyszerű laboratóriumi evolúciós kísérletek segítségével.

III) A funkcióvesztéses mutációk rendkívül elterjedtek. A megfigyelt pontmutációk, valamint kis (1-100 bázispár közötti) deléciók és inzerciók több, mint 27%-a korai stop kodont, a leolvasási keret eltolódását (frameshift), vagy a start kodon sérülését eredményezte. Ezek a mutációk valószínűsíthetően rosszul működő vagy inaktív fehérjék képződéséhez vezetnek. Sok esetben a funkcióvesztéses mutációk nagyszámú antibiotikummal szemben biztosítottak rezisztenciát, például azokban az esetekben, melyekben a mutációk az antibiotikum-stressz válasz transzkripciós represszorainak (például *acrR*, *marR*, *mprA*) egyikét érintették. Ezen mutációk rendszerint önmagukban is multidrog rezisztenciához vezettek.

IV) A párhuzamos evolúció bizonyítékai. A párhuzamos evolúció markánsan megjelent a mutációt hordozó aminosavak, gének és funkcionális egységek szintjén egyaránt. Egyrészt, az érintett gének 35%-a hordozott legalább két független, párhuzamosan adaptált vonalban mutációt, ráadásul az összes azonosított pontmutáció 8%-a volt megtalálható legalább két független adaptált vonalban. A fenti képet tovább árnyalja, hogy az összes párhuzamosan mutálódott gén 66%-a olyan vonalakban történt, melyek eltérő antibiotikumokkal szemben adaptálódtak. Ez az eredmény arra enged következtetni, hogy bár az egyes antibiotikumok hatásmechanizmusa nagyon eltérő, ennek ellenére a rezisztencia kialakulásának kulcspontjait mégis egymással átfedő funkcionális egységek biztosítják.

V) Az adaptált vonalak antibiotikum rezisztencia spektrumának nagy áteresztőképességű szűrése. A protokoll megfelelő működését két kontroll kísérlettel is igazoltuk. Egyrészt, a protokollt a kezdeti fázisban a protokollal párhuzamosan végzett, agar lemezekon mért kolónia méretek alapján optimalizáltuk. Másrészt, a protokoll keresztrezisztenciára vonatkozó eredményeit standard E-teszt csíkokkal mért minimális gátló koncentráció (MIC) méréssel erősítettük meg, mely alapján a téves pozitív arányt 5%-nak, míg a téves negatív arányt 16%-nak találtuk.

VI) Az egyetlen antibiotikummal történő kezelés is gyakran multidrog rezisztenciához vezet. A multidrog rezisztencia kialakulása még az antibiotikumok egyedi, monoterápiás alkalmazása mellett is gyakori volt: a vizsgált antibiotikum párok 52%-a mutatott legalább az egyik irányban keresztrezisztencia kölcsönhatást. A keresztrezisztencia mértéke azonban rendkívül változatosnak bizonyult, az enyhe 2-szeres minimális gátló koncentráció (MIC) növekedéstől az akár 128-szoros MIC növekedésig széles palettán mozgott. Az erős keresztrezisztencia kölcsönhatás nem korlátozódott az azonos, vagy hasonló hatásmechanizmusú, azaz azonos osztályba tartozó antibiotikum párokra.

VII) A keresztrezisztencia kölcsönhatásokért részben a párhuzamos evolúció felel. Annak ellenére, hogy az általunk alkalmazott 12 antibiotikum az antibakteriális hatásmechanizmusok széles skáláját fedi le, az adaptációt követő teljes-genom szekvenálás során a párhuzamos evolúció számos példáját találtuk még távoli antibiotikum osztályok között is. Az egyes adaptált vonalak mutációs profiljainak hasonlóságát vizsgálva azt találtuk, hogy azon antibiotikum párok, melyekhez adaptált vonalak között kevéssé volt hasonló a mutációs profil, ritkábban mutattak egymással keresztrezisztencia kölcsönhatást, mint azok az antibiotikum párok, melyeknél nagyobb volt a hasonlóság a mutációs profilban. A mutációk meghatározó szerepét a keresztrezisztencia kölcsönhatásokban továbbá 9 az adaptált vonalakban azonosított mutáció vad típusú genetikai háttérbe való visszaillesztésével, majd az egyedi mutációk által okozott keresztrezisztencia lemérésével igazoltuk.

VIII) Az antibiotikumok sajátosságainak hatása a keresztrezisztencia kölcsönhatások kialakulására. A kémiai struktúra hasonlósága (Tanimoto-hasonlóság, mely az egyes szerkezeti motívumok megléte vagy hiánya alapján készít kémiai ujjlenyomatot minden egyes antibiotikumról, majd ezeket az ujjlenyomatokat veti össze) szinte egyáltalán nem mutatott összefüggést a keresztrezisztencia kölcsönhatások megjelenésével. Az antibiotikumok hatásmechanizmusbeli hasonlóságának hatását a keresztrezisztencia kölcsönhatások megjelenésére úgy vizsgáltuk, hogy antibiotikum páronként a hordozott mutációk hasonlóságát összevettük a kemogenomikai profil hasonlóságával. Ez esetben azt találtuk, hogy azon antibiotikum párok, melyek jelentős átfedést mutattak a kemogenomikai profiljukban egymáshoz nagyon hasonló mutációkat is szereztek a laboratóriumi adaptáció során. Megállapítottuk tehát, hogy bár a kémiai hasonlóság nem, a kemogenomikai profil hasonlóság jelentős mértékben befolyásolja, hogy az adott antibiotikum pár között kialakul-e keresztrezisztencia kölcsönhatás.

IX) A multidrog rezisztens baktériumok Achilles-sarka, azaz a járulékos érzékenység. A járulékos érzékenység kölcsönhatás meglepően gyakorinak bizonyult vizsgálatunkban, ahol az összes lehetséges antibiotikum pár 35%-a mutatott hiperérzékenységet legalább az egyik irányban. A járulékos érzékenységi kölcsönhatások túlnyomó része olyan antibiotikum párok között jött létre, ahol a kemogenomikai profilban elhanyagolható volt az átfedés. A járulékos érzékenység tehát olyan antibiotikum párok között hajlamos megjelenni, melyeknek hatásmechanizmusa jelentős eltérést mutat. A járulékos érzékenységi hálózatban az aminoglikozidok domináltak, az összes járulékos érzékenységi kölcsönhatás 44%-ának egyik tagja aminoglikozid. A megfigyelt járulékos érzékenység általában 2-10-szeres minimális gátló koncentráció (MIC) csökkenést jelentett. Ez a változás arányos a különböző multidrog efflux pumpa mutánsok esetében leírt, 2-8-szoros MIC növekedéssel.

X) Többszintű mechanizmus az aminoglikozid rezisztencia hátterében. Az aminoglikozid rezisztencia összetett mivoltát sugallja, hogy az aminoglikozid-adaptált vonalak jóval több, átlagosan 11,4 mutációra tettek szert, mint a többi antibiotikummal szemben adaptált vonalak, melyekben átlagosan 5,65 mutációt tudtunk azonosítani. Az útvonal feldúsulási analízis szerint, a várakozásainknak megfelelően az egyik fő szelekciós célpont a transzlációs gépezet volt. Emellett számos olyan gén is mutációt hordozott, melyek a membrán transzport folyamatokban, a foszfolipid bioszintézisben, valamint a sejtmembrán és a sejtfal homeosztázis fenntartásában vesznek részt. A reaktív oxigén gyököket megkötő poliaminok bioszintézise szintén érintve volt. Ezen felül a mutációt hordozó gének között igen elterjedtek bizonyultak a közvetlen vagy közvetett módon a membrán elektrokémiai potenciálját befolyásoló gének.

XI) Az aminoglikozid-adaptált vonalak mutációinak kettős hatása a membrán permeabilitásra. Feltételezésünk szerint az aminoglikozid-adaptált vonalak által hordozott, membránpotenciálra hatással lévő mutációk jelentősen hozzájárulnak a járulékos érzékenység kialakulásához. Feltételezésünk két alappilléren nyugszik: egyrészt az aminoglikozidok egyedülálló módon proton motoros erőt igényelnek a sejtbejutáshoz; másrészt számos nem-aminoglikozid antibiotikum aktív effluxa szintén proton motoros erőt igénylő folyamat. Ezek alapján úgy gondoltuk, hogy a kólibaktérium a gyors, kismértékű aminoglikozid rezisztencia eléréséhez drasztikusan lecsökkenti a membránpotenciált, ám ezek a mutációk járulékos hatásként jelentősen csökkentik a főbb proton motoros erő függő efflux pumpák működését. Valóban, az aminoglikozid-adaptált vonalakban azonosított mutációk jelentős része közvetlen vagy közvetett módon hozzájárul a baktérium membránpotenciáljának kialakításához. A megfigyelt mutációkon túl további két biokémiai vizsgálat is alátámasztotta az általunk javasolt modellt: a DiOC₂(3) fluoreszcens festék segítségével bebizonyítottuk, hogy a membránpotenciál valóban jelentősen csökkent az aminoglikozid-adaptált vonalakban; másrészt ezekben a vonalakban az emelkedett intracelluláris Hoechst fluoreszcens festék felhalmozódás az efflux pumpák csökkent működésére utal.

XII) A *trkH* gén egyetlen pontmutációja is széleskörű járulékos érzékenységhez vezet. A TrkH a kálium ionok felvételével járul hozzá a membránpotenciál kialakításához. Mutációi a szekvenált aminoglikozid-adaptált vonalak 64%-ában megtalálhatóak voltak. Az egyik, az ioncsatornához közel eső mutációt visszaillesztve a mutáció önmagában is enyhe aminoglikozid rezisztenciához vezetett, miközben számos más antibiotikummal szemben növelte a járulékos érzékenységet. A *trkH** egyedi mutáns törzs csökkent membránpotenciálja, valamint megnövekedett Hoechst festék felhalmozása alátámasztotta elméletünket, miszerint a proton motoros erő áll a negatív csereviszony (trade-off) hátterében.

XIII) A járulékos érzékenység részben az AcrAB efflux rendszerhez köthető. Az AcrAB multidrog efflux pumpa működése a proton motoros erőn alapul, így feltételeztük, hogy az AcrAB efflux rendszernek kulcsszerepe van a járulékos érzékenységi mintázat létrehozásában. Vizsgálatainkhoz a *trkH* egyedi mutánst, illetve egy aminoglikozid-adaptált vonalat egy olyan többkópiás (multicopy) plazmiddal transzformáltunk, mely a kólibaktérium AcrAB transzportert kódoló génjeit hordozza, az azoknak megfelelő natív promóterekkel. Az így kapott törzsek érzékenységét négy olyan antibiotikummal szemben teszteltük, melyek az AcrAB efflux rendszer ismert szubsztrátjai. Az AcrAB overexpressziós plazmid mind a négy antibiotikummal szemben szignifikáns rezisztenciát biztosított a vad típusú kiindulási törzsben, azonban ugyanez a plazmid sokkal enyhébb rezisztenciát tudott biztosítani a mutációt hordozó törzsekben.

Az értekezés alapjául szolgáló publikációk listája

Lázár V*, Nagy I*, **Spohn R***, Csörgő B, Györkei Á, Nyerges Á, Horváth B, Vörös A, Busa-Fekete R, Hrtyan M, Bogos B, Méhi O, Fekete G, Szappanos B, Kégl B, Papp B, Pál Cs **Genome-wide analysis captures the determinants of the antibiotic cross-resistance interaction network** NATURE COMMUNICATIONS Jul 8;5:4352. (2014) IF: 11.470

* megosztott első szerzők

Lázár V, Pal Singh G, **Spohn R**, Nagy I, Horváth B, Hrtyan M, Busa-Fekete R, Bogos B, Méhi O, Csörgő B, Pósfai Gy, Fekete G, Szappanos B, Kégl B, Papp B, Pál Cs **Bacterial evolution of antibiotic hypersensitivity** MOLECULAR SYSTEMS BIOLOGY Oct 29;9:700. (2013) IF: 14.099

Egyéb publikációk

Notebaart RA, Szappanos B, Kintsés B, Pál F, Györkei Á, Bogos B, Lázár V, **Spohn R**, Csörgő B, Wagner A, Ruppín E, Pál Cs, Papp B **Network-level architecture and the evolutionary potential of underground metabolism** PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA Aug 12; 111(32): 11762–11767. (2014) IF: 9.674

Lázár V, Martins A, **Spohn R**, Daruka L, Grézal G, Fekete G, Számel M, Jangir PK, Kintsés B, Csörgő B, Nyerges Á, Györkei Á, Kincses A, Dér A, Walter FR, Deli MA, Urbán E, Hegedűs Zs, Olajos G, Méhi O, Bálint B, Nagy I, Martinek TA, Papp B, Pál Cs **Antibiotic-resistant bacteria show widespread collateral sensitivity to antimicrobial peptides** NATURE MICROBIOLOGY May 24; 3(6): 718-731. (2018) IF: NA