

**Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei**  
**Thesis of PhD dissertation**

**Transzkripció faktorok vizsgálata**  
***Schizosaccharomyces pombe*-ban**

**Investigation of *Schizosaccharomyces pombe***  
**transcription factors**

Pataki Emese

Témavezető/Supervisor: Gálné Dr. Miklós Ida  
Tanszékvezető, egyetemi docens



**DEBRECENI EGYETEM**  
**Juhász-Nagy Pál Doktori Iskola**

**Debrecen, 2017.**

## I. Bevezetés és célkitűzés

A Genetika és Alkalmazott Mikrobiológia Tanszéken évtizedek óta zajlanak sejtciklussal kapcsolatos kutatások, kitüntetett figyelmet fordítva a citokinezisre és annak transzkripciós szabályozására. Modell organizmusként a *Schizosaccharomyces pombe* egysejtű élőlényt alkalmazzák, ugyanis számos, az emlős sejtekhez hasonló tulajdonsággal rendelkezik, s ráadásul könnyen tenyészthető laboratóriumi körülmények között. Az elmúlt években több citokinezisben sérült mutánst is izoláltak a tanszékünkön, amelyeket „sep” mutánsoknak neveztek el. Ezekben a mutánsokban a leánysejtek nem képesek elválni egymástól, így több sejtből álló láncos morfológiát mutató sejtek jönnek létre, ebben az egyébként egysejtű élőlényben (Grallert és mtsai, 1999). Közülük a sep10 és sep15 mutánsok a Mediátor komplex egy-egy alegységét kódoló génben voltak sérültek.

Azért, hogy jobban megismerjük a Mediátor komplex sep10 alegységének működését, két olyan transzkripciós faktor tanulmányozását tűztük ki célul, amelyek a *sep10* szabályozása alatt állnak. Az egyik az

*fh11* fork-head transzkripciós faktor volt, a másik pedig az *rsv1* cink-ujj típusú transzkripciós faktor.

Céljaink az *fh11* transzkripciós faktor vizsgálatát illetően a következők voltak:

- az *fh11* szabályozása alá tartozó gének meghatározása génexpressziós analízissel
- a génexpressziós adatok validálása
- az *fh11* gén és a TOR (target of rapamycin) útvonal lehetséges kapcsolatának a vizsgálata

Az *rsv1* transzkripciós faktor nélkülözhetetlen a sejtek számára stacioner fázisban glükóz éhezés körülmények mellett. Bioinformatikai adatok szerint a *S. pombe* Rsv1 proteinjének vannak homológjai *Aspergillus nidulans*ban, *Saccharomyces cerevisiae*ben és emlősökben is. Így, az *rsv1* gént illetően célunk az volt, hogy:

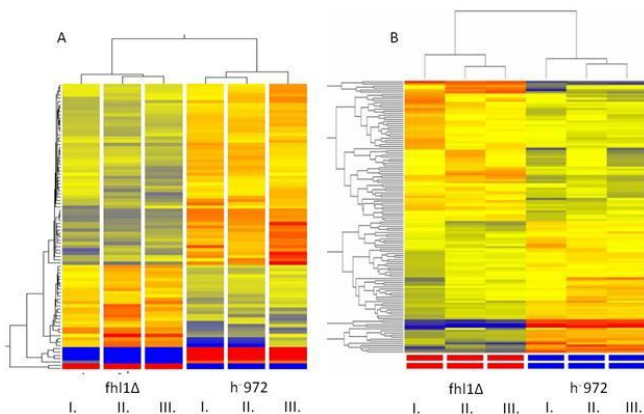
- további ortológokat azonosítsunk a *Schizosaccharomyces* csoporton belül és a *C. albicans*ban
- bioinformatikai módszerekkel elemezzük a homológ szekvenciákat

- kísérletesen igazoljuk a homológ proteinek funkcióbeli hasonlóságát

## II. Új tudományos eredmények

### II.1. A *Δfhl1* target génjeinek meghatározása

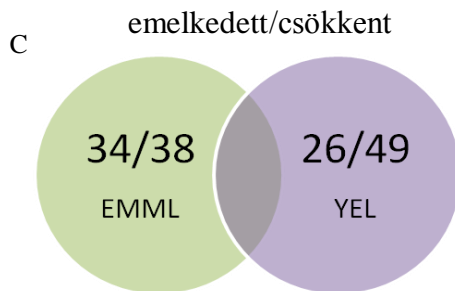
Azért, hogy az *fhl1* gén szabályozása alatt álló géneket meghatározzuk, mikroarray analízist végeztünk minimál és komplett tápközegben (1. ábra A,B). A két különböző táptalajon tenyésztett mutáns sejtekben azonos és eltérő target géneket egyaránt találtunk, azonban érdekes módon az eltérő gének is azonos funkcionális csoportba voltak sorolhatók (1. táblázat).



emelkedett mRNA szint



csökkent mRNA szint



**1.ábra** Az *Afh11* törzs mikroarray analízise. A gének hierarchikus klaszter analízise. Gének, amelyeknek az expressziója nőtt vagy csökkent az *fhl1* mutánsban minimál EMML (A ábra) vagy komplett YEL tápfolyadékban (B ábra). A target gének száma (C ábra). (I.II.III. a kísérletek száma).

**Figure 1.** Microarray analysis of the *Afh11* strain. The cluster of genes that are differentially expressed on YEL (A) and on EMML (B). Number of the target genes (C). (I. II. III. are the numbers of the experiments).

**1.táblázat** Azon gének listája, melyeknek az expressziós szintje csökkent vagy megemelkedett minimál vagy komplett tápközegben az *fhl1* mutánsban.

**Table 1. List of genes that** Genes that are upregulated or downregulated in the *fh11* mutant either on minimal or on complete media.

Gén azonosítója/ Gén neve	Funkció	mRNS szint az <i>fh11Δ</i> törzsben
		YEL vagy EMML
<i>mei2</i>	meiózisban fontos RNS-kötő fehérje	+
<i>ste4</i>	adaptor fehérje	+
<i>ste11</i>	transcripció faktor	+
<i>vps32</i>	ESCRT III komplex alegység	+
<i>mfc1</i>	membrán transzporter	+
<i>dak2</i>	dihydroxy aceton kináz	+
SPAC186.02c	hidroxi sav dehidrogenáz	+
<i>ura4</i>	orotidin 5'-foszfát dekarboxiláz	-
<i>rpl1603</i>	60S ribozómális fehérje L16	-
<i>vht1</i>	H- vitamin transzporter	-
<i>mug150</i>	árva gén	-
SPAC186.05c	GDT1-szerű fehérje	-
SPAC1142.09	hipotetikus fehérje	-

SPBPB2B2.09c	2-dehydropantoate 2-reduktáz	-
SPBC1271.07c	N-acetyl transzferáz	-
SPBPB10D8.02c	arylszulfatáz	-
SPCPB1C11.03	cisztein transzporter	-
<i>clr2</i>	kromatin csendesítő fehérje	-

## **II.2. A nitrogén éhezéskor indukálódó gének az *fhl1* szabályozása alatt állnak**

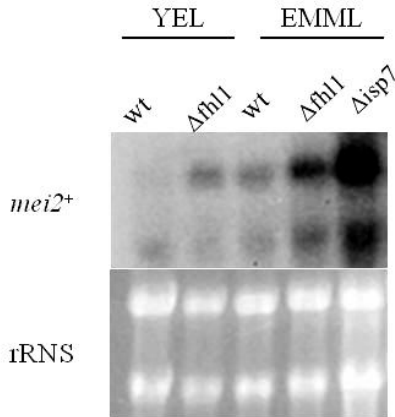
A következőkben funkciójuk szerint csoportosítottuk a target géneket, s több olyan gént is találtunk, amelyek a sporuláció és a meiózis folyamatában játszanak szerepet. Ezen gének nitrogén éhezés hatására indukálódnak és többségük a későn indukálódó gének csoportjába tartoznak (Mata és mtsai, 2002) (2. táblázat). A meiózis kulcsregulátorának, a *mei2* génnek az  $\Delta fhl1$  mutánsban való megemelkedett expressziós színjét, Northern blot kísérlettel is megerősítettük (2. ábra).

**2.táblázat** Az *fhl1* által szabályozott gének listája, amelyek a sporulációban fontosak

**Table 2.** Genes of mating and sporulation that are regulated by *fhl1*

Gén azonosítója	Gén neve	Leírás	mRNS szint a $\Delta fhl1$ mutánsban		Expressziós profil -N eltávolítása után
			EMML	YEL	
SPBC29B5.02c	<i>isp4</i>	szexuális differenciációban fontos protein		-	folyamatos
SPAPB8E5.05	<i>mfm1</i>	M-faktor prekursor 1		-	késői
SPAC513.03	<i>mfm2</i>	M-faktor prekursor 2		-	késői
SPBC1711.02	<i>mat-Mc</i>	mating-type M-specifikus polipeptid Mc		-	késői
SPAC1565.04c	<i>ste4</i>	adaptor protein	+++	+	késői
SPBC32C12.02	<i>ste11</i>	transzkripciós faktor	+	+	késői
SPAC11E3.06	<i>map1</i>	MADS-box transzkripciós faktor		+	késői
SPAC3F10.10c	<i>map3</i>	Feromon M-faktor receptor		+	késői
SPAC27D7.03c	<i>mei2</i>	meiózisban fontos RNS-kötő protein	+	+	késői
SPAC13A11.03	<i>mcp7</i>	meiózis specifikus protein	+		

\*a *ste4* gén expressziós szintje 1,46-szeres emelkedést mutatott a vad típusú sejtekhez képest). (+) mRNS szint növekedett, (-) mRNS szint csökkent.



**2. ábra** Az *fh11*<sup>+</sup> transzkripciós faktor, a *mei2*<sup>+</sup> gén negatív regulátora. A *mei2*<sup>+</sup> gén expressziós szintje megemelkedett az *Δfh11* törzsben a vad típusú (wt) törzshöz képest. *Δisp7* törzset pozitív kontrollként használtuk a Northern hibridizációs kísérletben (Laor és mtsai, 2015).

**Figure 2.** *fh11*<sup>+</sup> transcription factor negatively regulates transcription of *mei2*<sup>+</sup>. Expression level of *mei2*<sup>+</sup> is increased in *Δfh11* strain compared to wild type (wt). *Δisp7* was used as a positive control (Laor et al. 2014).

### II.3. Az *fh11* mutációja következtében fokozódott a sporulációs képesség

A következőkben az *Δfh11* mutáns sporulációs képességét vizsgáltuk nitrogénben gazdag, nitrogén-mentes és prolin

tartalmú táptalajokon. A 3. táblázat mutatja, hogy az  $\Delta fh11$  mutáns sporulációs képessége magasabb nitrogénmentes- és prolin táptalajokon a vad típusú sejtekhez képest.

**1. táblázat** Az  $fh11^+$  deléciója következtében megemelkedik a sejtek spóráképző képessége

**Table 3.** Disruption of  $fh11^+$  results in upregulation of mating efficiency

Spórázási képesség (%)			
Törzs genotípusa	EMMA	EMMA-N	Prolin
TA06 vad típusú $h^{90}$	67± 3	65± 2.6	71± 2.5
2-1019 $\Delta fh11h^{90}$	65± 3.6	81± 1.73	82± 1.5

#### II.4 Funkcióbeli átfedés az $fh11$ és $tor2$ gének között

Mivel a nitrogén éhezéskor indukálódó gének fő regulátora a  $tor2$  gén (TORC1), összehasonlítottuk az  $\Delta fh11$  génexpressziós adatait a  $tor2-ts$  mikroarray

adataival. A 4. táblázat mutatja a közösen szabályozott géneket.

**4.táblázat** Az *fh11* és a *tor2* gének által közösen szabályozott gének listája

**Table 4.** Genes regulated by both *fh11* and *tor2*

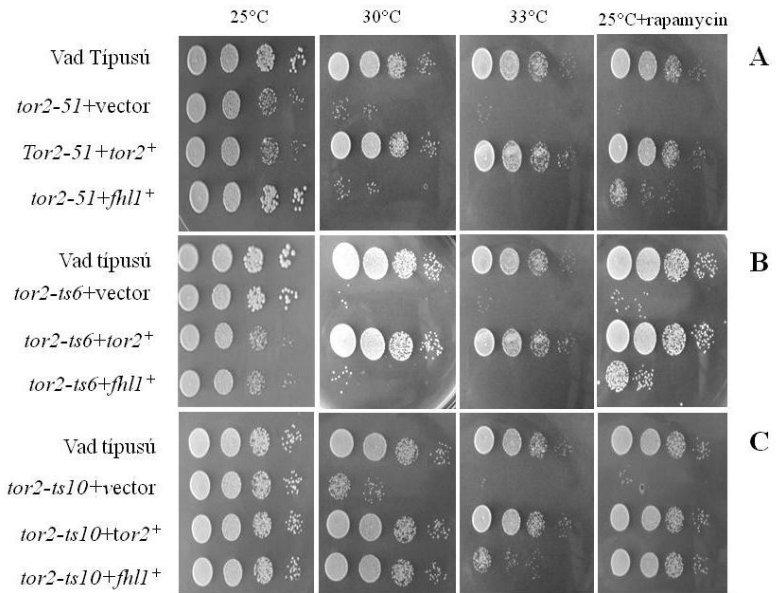
Gén azonosítója	Gén neve	Leírás	$\Delta fh11$	<i>tor2-ts6*</i>
SPAC2E1P3.05c		gomba cellulóz-kötő domén	+	+
SPAC11E3.06	<i>map1</i>	MADS-box transzkripciós faktor	+	+
SPAC1565.04c	<i>ste4</i>	M-faktor prekursor	+	+
SPAC3F10.10c	<i>map3</i>	feromon M-factor receptor	+	+
SPAC27D7.03c	<i>mei2</i>	RNS-kötő protein	+	+
SPAC1039.02		kalcineurin-foszfodiészteráz	-	+
SPAC13G7.13c	<i>msa1</i>	sporulációban fontos (predicted)	-	+
SPBC29B5.02c	<i>isp4</i>	OPT oligopeptid transzporter család tagja	-	+
SPAC1039.01		aminosav permeáz család tagja	-	+
SPAC513.04		árva gén	-	+
SPAC513.03	<i>mfm2</i>	M-faktor prekursor	-	+
SPAC3H1.06c		membrán transzporter (predicted)	-	+
SPBC1711.02	<i>matM<sub>c</sub></i>	mating-type m-specifikus polipeptid	-	+
SPCC285.05		purin nukleozid transzporter (predicted)	-	+
SPCC1223.09		urikáz enzim (predicted)	-	+

SPAPB8E5.05	<i>mfm1</i>	M-faktor prekursor	-	+
SPBPB2B2.01		aminosav permeáz család tagja	-	+
SPAC1142.09		funkciója bizonytalan	-	+
SPCC132.04c		glutamát dehidrogenáz	-	+

\* Matsuo et al. 2007

## **II.5 Az *fhl1*<sup>+</sup> gén túltermelése képes elnyomni a *tor2-ts* mutáns sejtek rapamycin és hőérzékenységét**

*Saccharomyces cerevisiae*-ben az Fhl1 gén a TORC1 irányítása alatt áll (Martin és mtsai, 2004). Mivel az  $\Delta fhl1$  és *tor2-ts* mikroarray adatai átfedést mutattak, kíváncsiak voltunk, hogy vajon a *S. pombe fhl1* génje is a TORC1 szabályozása alatt áll-e. Ezért a vad típusú *fhl1*<sup>+</sup> gént egy erős promotert tartalmazó expressziós vektorba klónoztuk, majd ezt a konstrukciót betranszformáltuk a *tor2-ts* sejtekbe. Az eredményeink felfedték, hogy az *fhl1*<sup>+</sup> túltermelése képes elnyomni a *tor2-ts* sejtek rapamycin és hőérzékenységét, ami arra utal, hogy a *S. pombe fhl1* génje a TORC1 szabályozása alatt állhat (3. ábra).



**3.ábra** Az *fhl1*<sup>+</sup> gén túltermelése csökkenti a *tor2-ts* mutáns sejtek hőmérséklet- és rapamycin érzékenységét. A *tor2-ts* hőmérséklet érzékeny mutáció eltérő alléljait hordozó *tor2-ts* sejteket **(A)** *tor2-51*; **(B)** *tor2-ts6*; **(C)** *tor2-ts10* pREP3x vektorral, pREP3x-*fhl1*<sup>+</sup>, vagy pedig pREP3x-*tor2*<sup>+</sup> DNS konstrukcióval transzformáltuk.

**Figure 3.** Overexpression of *fhl1*<sup>+</sup> suppresses the temperature and rapamycin sensitivity of *tor2-ts* mutant cells. Different alleles of *tor2* (**a** *tor2-51*; **b** *tor2-ts6*; **c** *tor2-ts10*) temperature sensitive mutants were transformed with empty pREP3x vector and pREP3x containing *fhl1*<sup>+</sup> or *tor2*<sup>+</sup> genes

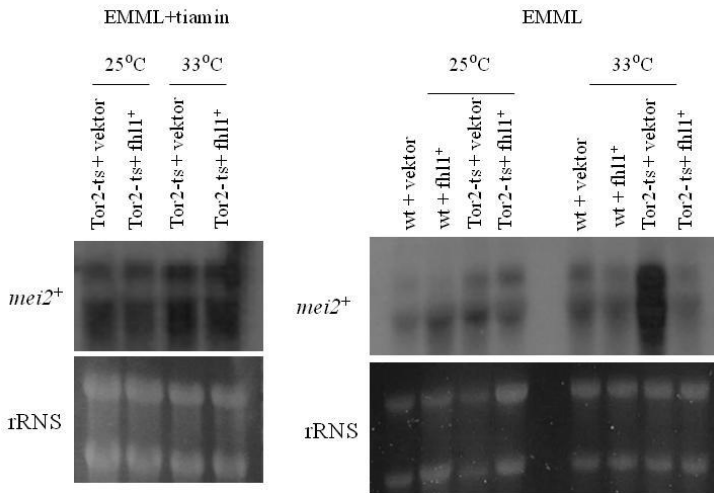
## **II.6 Az *fhl1*<sup>+</sup> túltermelése képes elnyomni a *tor2-ts* sejtek hipersporulációs képességét**

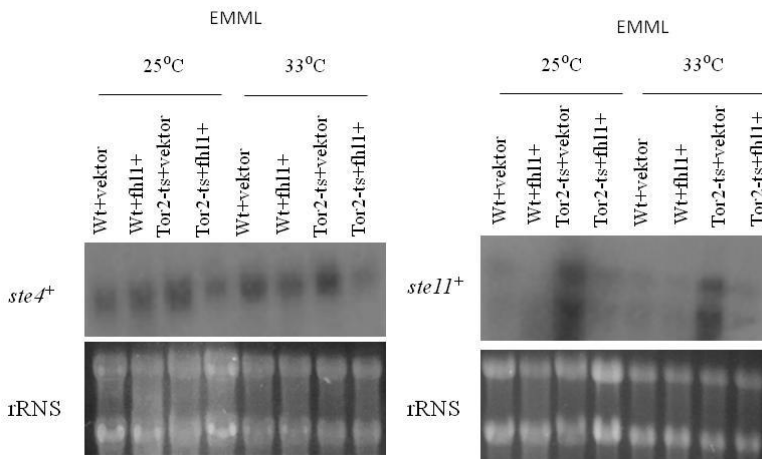
Az Fhl1 és Tor2 kapcsolatának a további vizsgálata érdekében megnéztük a *tor2-ts* mutáns sejtek sporulációs képességét az *fhl1*<sup>+</sup> gén jelenlétében. Az *fhl1*<sup>+</sup> gén túltermelése következtében 22%-os csökkenést tapasztaltunk a *tor2-ts* sejtek sporulációs képességét illetően minimál, illetve nitrogén-mentes minimál táptalajon (5. táblázat). A feni adatokkal összhangban az *fhl1*<sup>+</sup> gén túltermelése szintén csökkentette a meiózisban fontos gének megemelkedett expressziós szintjét (*mei2*, *ste11*, *ste4*) (4. ábra).

**5.táblázat** Az *fhl1*<sup>+</sup> gén túltermelése csökkenti a *tor2-ts10* mutáns sejtek túlzott spóráképzését

**Table 5.** Overexpression of *fhl1*<sup>+</sup> reduces the hyper mater phenotype of *tor2-ts10* cells

Spórázási képesség (%)		
Törzs genotípusa	EMMA	EMMA-N
<i>tor2-ts10+</i> pREP3X vector	83± 3	89± 2.5
<i>tor2-ts10+</i> pREP3X <i>-fhl1</i> <sup>+</sup>	61± 2	67± 2





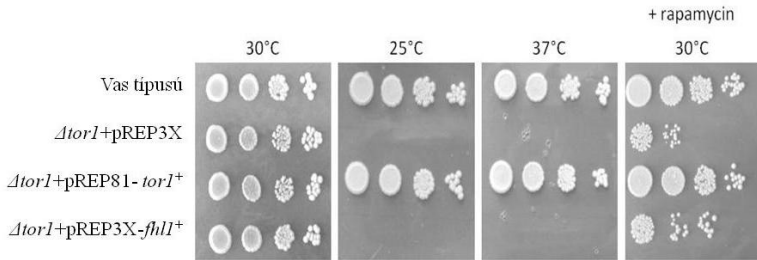
**4.ábra** Az *fhl1*<sup>+</sup> gén túlermelése csökkenti a nitrogénéhezés indukálta gének expresszióját a *tor2-ts* sejtekben. Northern blot analízis. A vad típusú (wt) és *tor2-ts* üres vektorral transzformált (pREP3X) és a pREP3X-*fhl1*<sup>+</sup> konstrukcióval transzformált sejteket 25°C-on növesztettük a logaritmusos fázis eléréséig minimál vagy tiamin tartalmú minimál táptalajon (*nmt1*<sup>+</sup> promóter aktív/inaktív). Majd restriktív hőmérsékleten (33°C) 4 órán át inkubáltuk a sejtek RNS izolálást megelőzően. *ste11*<sup>+</sup>, *mei2*<sup>+</sup> és *ste4*<sup>+</sup> próbákkal hibridizáltattuk az RNS mintákat.

**Figure 4.** Overexpression of *fhl1*<sup>+</sup> suppresses induction of the nitrogen starvation response genes in *tor2-ts* cells. Northern blot analysis of wild type (wt) and *tor2-ts* cells transformed with pREP3x or pREP3X-*fhl1*<sup>+</sup>. Cells were grown on 25°C to

mid-log phase in minimal (EMML) or EMML+thiamin and then shifted to the restrictive temperature (33°C) for 4 hours before RNA was extracted. *ste11*<sup>+</sup>, *mei2*<sup>+</sup> és *ste4*<sup>+</sup> probes were used for hybridization.

## **II.7 Az *fh11*<sup>+</sup> gén túltermelése nincs hatással a *Δtor1* mutáns sejtek hőérzékenységére**

A TORC1 és TORC2 ellentétes módon szabályozzák a nitrogén éhezéskor indukálódó gének csoportját (Martin és mtsai 2017). Mivel néhány nitrogénéhezéskor indukálódó gén expressziójára az *fh11*<sup>+</sup> gén negatív hatással van, megvizsgáltuk az *fh11*<sup>+</sup> génnek a TORC2-vel való lehetséges kapcsolatát. Az 5. ábrán látható, hogy az *fh11*<sup>+</sup> gén túltermelése nem volt hatással a *Δtor1* mutáns sejtek hőmérséklet érzékenységére és a rapamycin érzékenységet is csak alig csökkentette. Ezért az *fh11*<sup>+</sup> génnek a TORC2-vel való kapcsolatának a tisztázására további kísérletek szükségesek.



**5.ábra** Az *fhl1*<sup>+</sup> gén túlermelése *Δtor1* mutáns sejtekben

**Figure 5.** Overexpression of *fhl1*<sup>+</sup> in *Δtor1* mutant cells

## II.8 Az *fhl1* feltételezhetően szabályozza a transzportfolyamatok egy részét is

Egy másik géncsoport, amely módosult az *fhl1* mutációja következtében, a transzportfolyamatok és permeázok csoportjába sorolható. Érdekes módon ezeknek a géneknek egy része szintén nitrogén éhezéskor indukálódik (Mata és mtsai, 2002) (6. táblázat).

**6. táblázat** Az *fhl1* gén szabályozása alatt álló transzporter gének listája

**Table 6.** List of transporter genes regulated by *fhl1*

Gén azonosítója	Gén neve	Leírás	mRNS szint az $\Delta$ fh1 mutánsban		Expressziós szint –N eltávolítása után
			EMML	YEL	
SPAC1B3.16c	<i>vht1</i>	H- vitamin transzporter	-		változatlan
SPCPB1C11.03		Cisztein transzporter	-	-	változatlan
SPBPB10D8.01		Cisztein transzporter	-		változatlan
SPAC869.05c		Szulfát transzporter	-		változatlan
SPAC1F8.03c	<i>str3</i>	sziderofór- vas transzporter	-		változatlan
SPBC530.02		Membrane transzporter	-		változatlan
SPBC359.05	<i>abc3</i>	ABC transzmembrán transzporter	-		változatlan
SPAC1039.01		gamma-amino vajsav /polyamin transzporter	+	-	átmeneti
SPAC750.02c		Membrán transzporter	+		változatlan
SPAC869.03c		Urea transzporter	+		átmeneti
SPBC13A2.04c		PTR család peptid transzporter	+		változatlan
SPAPB1A11.01	<i>mfc1</i>	Membrán transzporter	+	+	változatlan
SPAP7G5.06	<i>per1</i>	Aminosav permeáz	+		változatlan
SPBPB2B2.01		Aminosav permeáz	+	-	átmeneti
SPCC285.05		Purin nukleozid transzporter		-	átmeneti
SPAC3H1.06c		Membrane transzporter		-	átmeneti
SPBC29B5.02c	<i>isp4</i>	OPT oligopeptid transzmembrán transzporter		-	változatlan

		család tagja			
SPBC359.03c	<i>aat1</i>	Aminosav transzmembrán transzporter		-	változatlan
SPCC576.17c		piridoxamin/piridoxin/piridoxál transzmembrán transzporter		+	változatlan
SPCC1020.10	<i>oca2</i>	szerin/treonin protein kináz		+	változatlan

## II.9 A *sep10* csupán néhány gént szabályoz az *fh11* génen keresztül

Meg akartuk határozni azokat a géneket is, amelyeket a *sep10* az *fh11* génen keresztül szabályoz. Ezért összehasonlítottuk a mikroarray adatainkat a *sep10* gén expressziós adataival. A 7. táblázat mutatja, hogy az *fh11* target génjei közül csak néhányat szabályoz a *sep10*, ami szintén azt sugallja, hogy az *fh11*-nek további regulátorai lehetnek.

**7. táblázat** *sep10* és *fh11* által szabályozott gének

**Table 7.** Genes regulated by both *fh11* and *sep10*

Gén azonosítója	Gén neve	Leírás	$\Delta fhl1$		sep10
			YEL	EMML	
SPAC1B3.16c	<i>vht1</i>	vitamin H transzporter	-	-	-
SPCPB1C11.03		cisztein transzporter	-	-	-
SPAC513.04		árva gén	-		-
SPAC3H1.06c		membrán transzporter	-		-
SPBC1271.07c		N- acetil transzferáz	-		-
SPAPJ760.03c	<i>adg1</i>	árva gén/glikoprotein	-		-
SPBC29B5.02c	<i>isp4</i>	oligopeptid transzporter	-		-
SPBC359.03c		aminosav permeáz	-		-
SPAC2E1P3.05c		cellulóz kötő fehérje	+		-
SPBPB7E8.01		árva gén	-		-
SPAC1142.08	<i>fhl1</i>	fork head típusú transzkripció faktor	-		-
SPAC13G7.13c	<i>msa1</i>	RNS kötő fehérje	-		-
SPAPB8E5.05	<i>mfm1</i>	M-faktor prekursor	-		-
SPCC1223.09		urikáz	-		-
SPCC965.14c		citozin deamináz	-		-
SPAC27D7.03c	<i>mei2</i>	meiózisban fontos RNS kötő fehérje	+	+	-
SPAC977.16c	<i>dak2</i>	dihidroxi aceton kináz	+	+	-
SPCC132.04c		NAD- függő glutamát dehidrogenáz	-		-
SPAC750.05c		hipotetikus fehérje		-	+

SPBPB2B2.08		konzervatív gomba fehérje		-	+
SPCC569.07		aminotranszferáz		-	-
SPBC13A2.04c		peptid transzporter		+	-
SPBC1861.02	<i>abp2</i>	ARS kötő protein		+	+
SPAPB24D3.07c		árva gén		+	+
SPAC869.01		amidáz		+	-
SPBC23G7.13c		urea transzporter		+	-
SPAC212.04c		hipotetikus fehérje		+	+
SPBP4G3.03		hipotetikus fehérje		+	+
SPBC1861.01c	<i>cnp3</i>	centromer fehérje		+	+

## II.10 A *S. pombe* Rsv1 fehérje ortológjainak meghatározása és szekvencia analízise

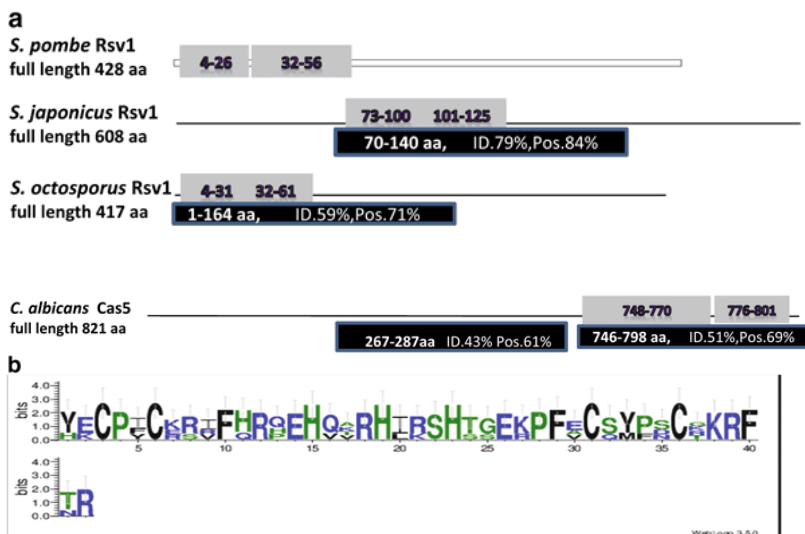
Blast analízissel a *S. pombe* Rsv1 fehérjének további ortológjait határoztuk meg a *Schizosaccharomyces* csoporton belül és *Candida albicans*ban. A 8. táblázat mutatja a *S. pombe* Rsv1 és az ortológ proteinek páronkénti összehasonlításának az eredményét. A *S. pombe* Rsv1 fehérje szekvenciájához leginkább a *S. japonicus* Rsv1 proteinje hasonló (85%), a *Candida albicans* Cas5 fehérjéje a legkevésbé (51%) (8. táblázat).

Weblogo program segítségével meghatároztuk a teljesen azonos aminosavakat a négy faj C2H2 doménjén belül (6/b ábra). A hasonmás proteinek többszörös szekvencia illesztése felfedte, hogy a homológia nem csupán a cink-ujj doménre korlátozódik, hanem található homológ szakasz a doménon kívül eső régióban is, amelynek a hossza eltérést mutatott a négy fajban (6/a ábra).

**8.táblázat** A *S. pombe* Rsv1 proteinjének páronkénti összehasonlítása más fajok Rsv1 homológjaival

**Table 8.** Pair-wise alignment of *S. pombe* Rsv1 protein and its orthologues

<i>S. pombe</i> Rsv1- <i>S. japonicus</i> Rsv1	<i>S. pombe</i> Rsv1- <i>S. octosporus</i> Rsv1	<i>S. pombe</i> Rsv1- <i>Candida albicans</i> Cas5
Expect = 3e-37	Expect = 3e-37	Expect = 3e-37
Identities = 56/71 (79%)	Identities = 99/167 (59%)	Identities = 27/53 (51%)
Positives = 60/71 (84%)	Positives = 120/167(71%)	Positives = 37/53 (69%)

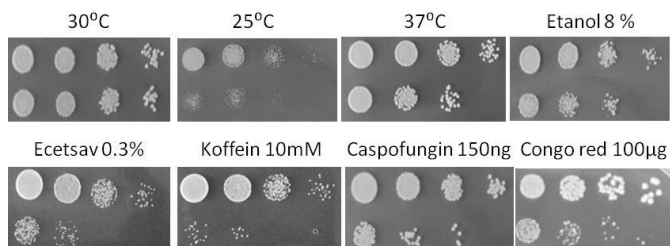


**6. ábra** Az *S. pombe* *rsv1* gén és ortológjainak páronkénti illesztése. **a)** az ábrán szürke szín jelöli a proteinek C2H2 doménjeit. Fekete színnel a konzervatív régiót jelöltük. Az ábra **b)** része a négy faj C2H2 doménjeinek illesztése során kapott konzervatív aminosavakat mutatja (Weblogo).

**Figure 6.** Pair-wise alignments between the *S. pombe* Rsv1 and its putative orthologous proteins (**a**). *Grey boxes*: C2H2 domains of the proteins. *Black boxes*: conserved regions. The *bottom box* (Weblogo) shows the fully conserved amino acids of the C2H2 domains (**b**). Weblogo was created from *S. pombe*, *S. japonicus*, *S. octosporus*, and *C. albicans* C2H2 domains.

## II.11 A *S. pombe* $\Delta rsv1$ mutáns sejtek érzékenyek a környezeti stresszre

Az *rsv1* gén szükséges a sejtek túléléséhez stacioner fázisban glükóz hiányos körülmények mellett (Hao és mtsai, 1997). Következésképpen az *rsv1* gén hiányában a sejtek érzékennyé válnak különböző környezeti stresszre, beleértve a hősokkot, etanolt és drogokat (Hao és mtsai, 1997; Pan és mtsai, 2012). Azért, hogy további információt nyerjünk a  $\Delta rsv1$  mutánst illetően, megvizsgáltuk a sejteket további környezeti stressz jelenlétében. Azt találtuk, hogy az  $\Delta rsv1$  sejtek nem képesek szaporodni 25°C-on illetve kaszopofungin, koffein ecetsav, és kongo red jelenlétében sem (7. ábra).



**7.ábra** Az *S. pombe* *rsv1* gén szükséges a sejtek túléléséhez stressz körülmények mellett. Hígítási sorból cseppentettünk YEA-ra, (inkubálva 25°C, 30°C vagy 37°C-on), YEA+8%

etanol, YEA+0,3% ecetsav, YEA+10mM koffein, YEA+150 mg/ml kaszpfungin, YEA+10 µg/ml kongo red táptalajokra.

Ez utóbbiakat 30°C-on 4 napig inkubáltuk.

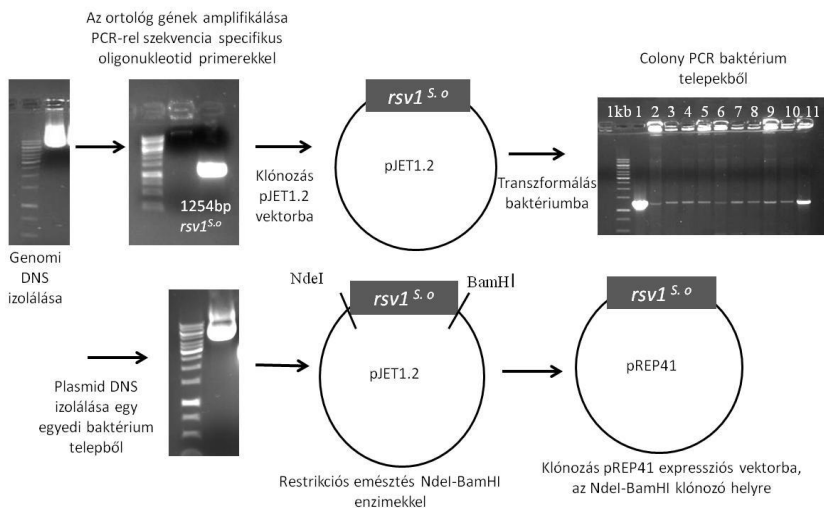
**Figure 7.** *S. pombe rsv1* is involved in stress responses.

Growth of the *rsv1*Δ cells was investigated under different stress conditions. Serial dilutions of the *rsv1*Δ cells were dropped onto YEA and incubated at 25, 30, and 37 °C, or onto YEA + supplements (8% ethanol, 0.3% acetic acid, 10mM/ml caffeine, 150 ng/ml caspofungin, and 10 ug/ml congo red) and incubated at 30 °C for 4 days.

## **II.12 A fajok közötti interspecifikus komplementációs vizsgálat felfedte a funkcionális homológiát a *S. pombe* Rsv1 és ortológjai között**

Azért, hogy megtudjuk, mely ortológ gének képesek-e a *S. pombe rsv1* génjét helyettesíteni, az ortológ géneket expressziós vektorba klónoztuk (8. ábra), majd pedig betranszformáltuk *S. pombe* Δ*rsv1* deléciós mutáns sejtekbe. Az eredményeink azt mutatják, hogy mindegyik hasonmás gén képes volt javítani a *S. pombe* Δ*rsv1* mutáns sejtek életképességén glükóz hiányos feltételek mellett (9. táblázat). Hasonlóképpen, mindegyik homológ

gén képes volt csökkenteni a *S. pombe*  $\Delta rsv1$  mutáns sejtek stressz érzékenységét (9. ábra).



**7. ábra** Az *rsv1*<sup>+</sup>/*Cas5*<sup>+</sup> gének klónozásának menete.

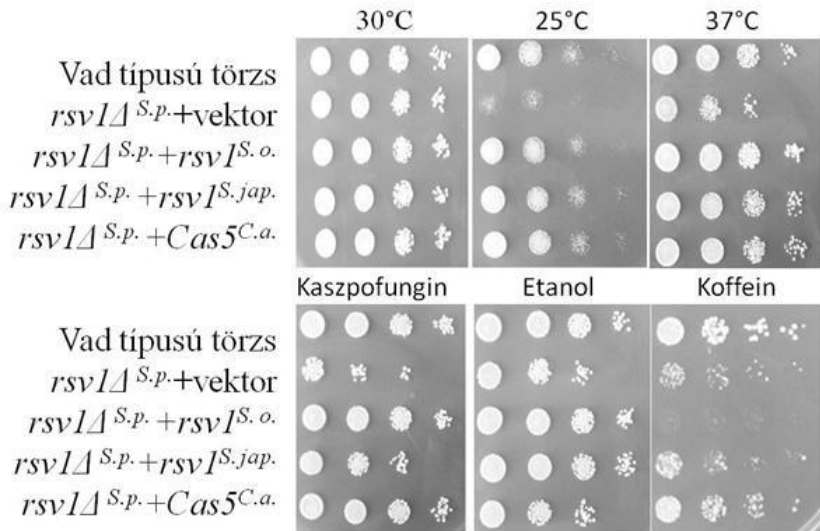
**Figure 8.** Schematic representation of the cloning of *rsv1*<sup>+</sup>/*Cas5*<sup>+</sup> genes.

**9. táblázat** A transzformánsok telepformáló képessége glükóz megvonást követően

**Table 9.** Colony formation of the transformants under glucose starvation

A transzformáns törzs száma és genotípusa	Telepformáló képesség glükóz éhezés után (%)
112: <i>rsv1Δ<sup>S.p.</sup></i> + pREP41	25
111: <i>rsv1Δ<sup>S.p.</sup></i> + pREP41 + <i>rsv1<sup>+</sup>S.o.</i>	47
214: <i>rsv1Δ<sup>S.p.</sup></i> + pREP41 + <i>rsv<sup>+</sup>I<sup>S.j.</sup></i>	30
318: <i>rsv1Δ<sup>S.p.</sup></i> + pREP41 + <i>Cas5<sup>+</sup>C.a.</i>	44

*S.p.*: *Schizosaccharomyces pombe*, *S.o.*: *Schizosaccharomyces octosporus*, *S.j.*: *Schizosaccharomyces japonicus*, *C.a.*: *Candida albicans*, *rsv1<sup>+</sup>*: vad típusú allél/ wild type allele



**9.ábra** Az *S. octosporus*, *S. japonicus rsv1* és *C. albicans Cas5* génje képes elnyomni az *S. pombe  $\Delta rsv1$*  mutáns törzs érzékenységet. (OD<sub>595</sub>:0.2, 10x, 100x, 1000x hígítási sorból 10  $\mu$ l kicsepegtetve EMMA és EMMA+kiegészítők táptalajra (200 ng/ml kaszopfungin 8% etanol, 10mM koffein).

**Figure 9.** Overexpression of *S. octosporus*, *S. japonicus Rsv1*, and *C. albicans Cas5* proteins could suppress stress sensitivity of *S. pombe rsv1 $\Delta$*  strain. 10  $\mu$ l of the serial dilutions of the transformant cells (OD<sub>595</sub>:0.2, 10X, 100X, 1000X) were dropped onto minimal (EMMA) plates or minimal medium supplemented with 200 ng/ml caspofungin, 8% ethanol, or 10 mM/ml caffeine.

### III. Összefoglalás

Jelen tanulmányban a *Schizosaccharomyces pombe* egyik forkhead és egyik cink-ujj típusú transzkripciós faktorának vizsgálatával foglalkoztunk. Mint korábban kiderült, mindkettő a Sep10 regulátor szabályozása alá tartozik, s mindkét transzkripciós faktor szerepet játszik a tápanyagérzékelésben. Az *rsv1* cink-ujj típusú transzkripciós faktor a glükózérzékelésben fontos, míg a forkhead típusú *fh1* fork-head típusú transzkripciós

faktor nitrogénre rezponzív. Az eredményeink a két transzkripciós faktort illetően, a következőképpen foglalhatók össze:

- Mikroarray analízissel meghatároztuk az *fhll* transzkripciós faktor lehetséges target génjeit, s kiderült, hogy több mint 70 gén működését befolyásolja (1. ábra).

- A két különböző körülmény között tenyésztett sejtek génextpressziós vizsgálata rávilágított arra, hogy egy transzkripciós faktor target génjei részben változhatnak a külső körülményektől függően. Bár több olyan gént is azonosítottunk, amelyek mRNS szintje a táptalajtól függetlenül módosult az *fhll* mutáció következtében (1. táblázat).

- A target gének funkciójának meghatározása, GO kategóriákba való csoportosítása azonban felfedte, hogy az *fhll* különböző körülmények között működő target génjei többnyire azonos géncsoportba sorolhatók (1. táblázat).

- Egyik jól definiálható *fhll* által regulált géncsoport, a nitrogén éhezéskor indukálódó gének csoportja (2, 6 táblázat). Ezek között jónéhány gént találtunk, amelyek a transzport illetve a mating és

meiózis folyamatában játszanak szerepet (2, 6 táblázat). Ezek alapján feltételezhető az *fhl1* meiózisban való szerepe, amit megerősített a mutáns sejtek sporulációs képességének vizsgálata is (3. táblázat), illetve a *mei2* Northern blot analízise (2. ábra)

- A génexpressziós profilok összehasonlítása megmutatta a *tor2* és az *fhl1* gének közötti kapcsolatot (4. táblázat), melyet kísérletesen is sikerült bizonyítani az *fhl1* gén túltermeltetésével a *tor2-ts* sejtekben. Ugyanis azt találtuk, hogy az *fhl1* gén túltermelése csökkentette a rapamycin és hőmérséklet érzékenységet és a túlzott spórázóképességet a *tor2-ts* sejtekben (3, 4. ábra, 5. táblázat).

- Bemutattuk továbbá azt is, hogy az *fhl1*<sup>+</sup> gént tartalmazó *tor2-ts* sejtek csökkent spórázóképessége mögött, a meiózisban szerepet játszó gének csökkent expressziós szintje áll (4. ábra).

Így az eredményeinkre alapozva tehát azt állíthatjuk, hogy a TORC2 komplex szabályozása alatt az *fhl1* transzkripciós faktor, amely a meiózisban szerepet játszó gének és a nitrogén éhezés kiváltotta sejtválasz regulátora.

- Az *rsv1* transzkripciósfaktort illetően, ortológokat azonosítottunk bioinformatikai vizsgálatokkal a *Schizosaccharomyces* csoporton belül, valamint a *C. albicans*-ban (7. táblázat).
- A páronkénti szekvenciaillesztések kimutatták, hogy az Rsv1 protein és homológjai főként a C2H2 (cink-ujj) doménjében mutattak erős konzervativizmust, azonban mi találtunk homológ régiót e doménon kívül is (6/a. ábra).
- A többszörös szekvenciaillesztés az evolúciósan konzervatív aminosavakat is megmutatta a vizsgált fehérjékben (6/b. ábra).
- A homológ gének klónozása (8. ábra) és fajok közötti komplementációs analízis azt mutatta, hogy mindhárom általunk azonosított ortológ gén működőképes a *S. pombe rsv1* mutánsban, azaz megőrizte funkcionális konzervativizmusát (9. ábra, 7. táblázat). A komplementáció mértéke azonban eltérő volt, ami feltehetően a C2H2 doménon kívüli konzervatív régióknak köszönhető (6. ábra).

Összefoglalva, az eredményeink azt sugallják, hogy az *rsv1* gén ortológjai evolúciósan konzervatívak és azonos funkciót töltenek be a hasadó élesztőcsoporton belül, illetve *C. albicans*ban.

## **I. Introduction and aims**

Genetic background of cell cycle has been studied in the past 20 years at the Department of Genetics and Applied Microbiology, focusing on cytokinesis and its transcriptional regulation. The fission yeast *Schizosaccharomyces pombe* has been used as a model organism, since it has those features that are highly similar to mammalian cells. In the past, several cytokinesis mutants have been isolated at our department, which were named „sep” (cell **se**paration) mutants. In these mutants the septa between the two daughter cells remain intact which results in a multicellular phenotype in this unicellular microorganism (Grallert et al. 1999). Earlier results revealed that *sep10* and *sep15* genes encoded subunits of the Mediator complex.

In order to better understand function of the Mediator complex and its Sep10 subunit, we wanted to study two transcription factors regulated by *sep10* gene. One of them was the *fh11* fork-head, while the other one was the *rsv1* zinc-finger transcription factor.

Aim of our study was to:

- identify the target genes of *fh11* using microarray analysis
- validate the gene expression data
- investigate the possible relation between *fh11* and the TOR (Target of Rapamycin) pathway

*rsv1* zinc finger transcription factor required for stationary phase viability under glucose starvation in the fission yeast. Since bioinformatic analysis revealed that *S. pombe* Rsv1 protein had homologues in *Aspergillus nidulans*, *Saccharomyces cerevisiae* and in mammals, we supposed that it has also counterparts in further yeast species.

Thus, our aims were to:

- identify additional orthologous proteins in the *Schizosaccharomyces* group and in *Candida albicans*

- investigate the homologous proteins by bioinformatic methods and interspecific complementation analysis

## **II. New scientific results**

### **II.1 Identification of *fhl1* target genes**

To identify targets of the Fhl1 fork-head protein, we performed genome-wide gene expression analyses of the *fhl1* mutant cultured both on rich and on minimal media (figure 1. A,B.). Our results revealed that mRNA levels of 72 genes on minimal (EMM) and 75 on complete (YE) media were altered in the mutant (figure 1.), there were differentially expressed genes on YE and on EMM due to the loss of *fhl1* function. However most of the target genes could be classified to the same GO categories (table 1.).

### **II.2 Nitrogen starvation response genes are controlled by *fhl1***

Among the targets we found a number of genes that are involved in mating and sporulation, such as *mei2*<sup>+</sup>, *ste4*<sup>+</sup>,

*mfm1*<sup>+</sup>, *mfm2*<sup>+</sup>, *matMc*<sup>+</sup> (table 2.). Furthermore, elevated expression level of the key regulator of meiosis (*mei2*)<sup>+</sup> was also confirmed by Northern blot analysis in the  $\Delta$ *fh11* (figure 2.). Comparison of the microarray data revealed that majority of the meiotic genes were also induced by nitrogen starvation and most of them belonged to the delayed genes (Mata et al. 2002).

### **II.3 Mating efficiency is increased in the *fh11* mutant strain**

Since the above results suggested a regulatory function for the *fh11* gene in meiosis and sporulation, we tested sporulation efficiency of the *fh11* $\Delta$  mutant strain on nitrogen-rich (EMMA), nitrogen-free (EMMA-N) and on prolin containing medium. Table 3. shows that sporulation efficiency of the *fh11* $\Delta$  mutant strain was higher on medium lacking nitrogen or on prolin containing media compared to wild-type strain.

### **II.4 Functional overlap between Fhl1 and Tor2**

Since the meiotic genes were also induced by nitrogen starvation (Mata et al. 2002) and the nitrogen starvation response is controlled by *tor2* (Matsuo et al. 2007), we compared our results with the data of microarray analysis of *tor2-ts* strain (Matsuo et al. 2007). The comparison revealed that there is an overlap between *tor2* and *fh11* fork-head transcription factor in the regulation of these genes (table 4). However, majority of these genes altered in opposite manner in the mutant strains.

## **II.5 Overexpression of *fh11*<sup>+</sup> suppressed rapamycin and temperature sensitivity of *tor2-ts* mutant cells**

In *S. cerevisiae*, TORC1 regulates the activity of *fh11*<sup>+</sup> (Martin et al. 2004). Since our genome wide expression analysis suggested an overlap between genes that are regulated by *tor2*<sup>+</sup> and *fh11*<sup>+</sup> in *S. pombe*, we examined the possibility that TORC1 (Tor2) and Fh11 work on the same pathway. Our results revealed that expression of *fh11*<sup>+</sup> from a strong promoter suppressed the rapamycin and temperature sensitivity of *tor2* mutant cells (figure 3), suggesting that *fh11*<sup>+</sup> lies downstream of TORC1 (*tor2*).

## **II.6 Overexpression of *fh11*<sup>+</sup> suppressed the hyper-sporulation defect of *tor2-ts* cells**

In order to further examine the relationship between Fhl1 and Tor2, the sporulation defect of *tor2-ts10* was investigated. We spotted suspensions of pre-grown homothallic haploid (TA06h<sup>90</sup>) wild-type cells, *tor2-ts10* cells, and *tor2-ts10* cells transformed with pREP3X-*fh11*<sup>+</sup> cells on EMM (+N) and EMM-N (-N) agar plates and monitored their sporulation efficiencies (F<sub>M</sub>). We observed 22% decrease in sporulation efficiency on minimal (+N) media and on minimal media without nitrogen (-N), when the Fhl1p was expressed in the *tor2-ts10* cells (table 5), supporting a model in which Fhl1 lies downstream of Tor2. Consistent with the above results, overexpression of *fh11*<sup>+</sup> also suppressed the abnormal upregulation of the meiotic genes (*mei2*<sup>+</sup>, *ste11*<sup>+</sup>, *ste4*<sup>+</sup>) (figure 4).

## **II.7 Overexpression of *fh11*<sup>+</sup> has no effect on the temperature sensitive phenotype of $\Delta$ *tor1* cells**

TORC1 and TORC2 oppositely regulate expression of the nitrogen starvation response genes (Martin és mtsai 2017). Since several nitrogen starvation response genes were negatively regulated by *fh11*, we examined the possible relationship between *fh11* and TORC2 (*tor1*). Our results showed that overexpression of *fh11*<sup>+</sup> did not decrease the temperature sensitive phenotype of  $\Delta$ *tor1* cells, and its rapamycin sensitivity was also only slightly decreased (figure 5). Therefore, further experiments are needed to clarify the possible relationship between *fh11* transcription factor and TORC2 (*tor1*).

## **II.8 Transporter and permease genes are altered by the loss of *fh11*<sup>+</sup>**

Another group of genes that is altered by loss of *fh11*<sup>+</sup> function was classified as transporters and permeases (table 6). Interestingly, several of these transporter genes are also induced by nitrogen starvation (Mata et al. 2002).

## **II.9 Genes regulated by *sep10* via *fh11* were identified**

We wanted to identify those genes that were regulated by *sep10* via *fh11* transcription factor. Therefore, we compared our microarray data with expression analysis of  $\Delta$ *sep10* gene (Miklos et al. 2008). Table 7. shows the commonly regulated genes.

## **II.10 Identification of *S. pombe* Rsv1 orthologous proteins and their sequence analysis**

Using Blastp analysis we identified further orthologues of the *S. pombe* Rsv1 protein in the *Schizosaccharomyces* group and in *Candida albicans*. Table 8. shows results of the pair-wise alignments between *S. pombe* Rsv1 and its orthologous proteins. *S. octosporus* Rsv1 protein was the most similar to *S. pombe* Rsv1 protein (85%), while *C. albicans* Cas5 protein was the less similar (51%) (table 8). Using Weblogo program, we identified the evolutionarily conserved amino acids of the C2H2 domain in the four species (figure 6/b). Sequence

alignments revealed that the homologous regions were not restricted only to the C2H2 domain (figure 6/a).

## **II.11 Deletion of *S. pombe rsv1* gene results in sensitivity to environmental stress**

*rsv1* transcription factor is required for survival under glucose starvation in stationary phase (Hao et al, 1997). Accordingly, the lack of *rsv1* results in sensitivity to several stress, including heat shock, ethanol or drugs (Hao et al, 1997; Pan et al, 2012). To find useful features for the functional complementation analysis, the *S. pombe rsv1* $\Delta$  strain was investigated under different environmental circumstances. Our results revealed that the mutant cells were sensitive to the presence of the antifungal drug caspofungin, caffeine, acetic acid, and congo red. Furthermore, the mutant cells were unable to grow at 25°C (figure 7).

## **II.12 Interspecific complementation analysis revealed functional homology between *S. pombe* Rsv1 protein and its orthologous proteins**

To find out which orthologous genes are able to suppress stress sensitivity of the *S. pombe rsv1*Δ strain, and reveal the possible differences in the degree of complementation, the *rsv1* genes of *S. japonicus* and *S. octosporus*, and *Cas5* gene of *C. albicans* were cloned into the pREP41 vector (figure 8) and Rsv1/Cas5 proteins were expressed from a quite strong promoter in the *S. pombe* mutant cells. Fig.9 shows that all the three genes were able to function in the *S. pombe* deleted cells and were able to improve viability of the Δ*rsv1* mutant cells under glucose starvation (table 9.), suggesting that *S. pombe rsv1* transcription factor and its putative homologues preserved their functional homology and are evolutionarily conserved.

## **Summary**

In this study, we investigated two Sep10 protein regulated transcription factors of *Schizosaccharomyces*

*pombe*. One of them was the fork-head type Fhl1, while the other one was the zinc-finger type Rsv1.

Earlier results revealed that both of them were involved in nutrient sensing (Hao és mtsai, 1997, Szilagyi és mtsai, 2005). Rsv1 zinc-finger protein is important in glucose sensing, while Fhl1 is responsive to changes of the external nitrogen concentration. Our findings concerning these transcription factors can be summarized in the following:

- Target genes of the *fhl1* transcription factor were identified by gene expression analyses. They revealed that more than 70 genes were regulated by *fhl1*.
- Microarray analyses of  $\Delta fhl1$  cells also shed light on the fact that different target genes were expressed depending on the growth conditions. However, majority of the target genes belonged to the same GO (Gene Ontology) category.
- One distinct group of genes regulated by  $\Delta fhl1$  can be defined as the nitrogen starvation response genes. The majority of them were involved in mating and sporulation. Increased mating efficiency of the  $\Delta fhl1$  cells confirmed the role of *fhl1* in sporulation.

- Comparison of the microarray data of *fhl1* deleted strain to the gene expression analysis of  $\Delta$ *tor2* revealed functional overlap between *fhl1* and *tor2* genes. This result was also confirmed by overexpression of *fhl1*<sup>+</sup> in the *tor2* mutant strain. Namely, overexpression of *fhl1*<sup>+</sup> from a strong promoter could suppress rapamycin- and temperature sensitivity, and hypermater defect of the *tor2-ts* cells.

- In addition, Northern blot analysis showed that overexpression of *fhl1*<sup>+</sup> gene in *tor2-ts* cells could decrease the increased expression level of meiotic genes in the mutant cells. It was in a good agreement with those results that showed that hypermater phenotype of the *tor2-ts* cells were also decreased after overexpression of *fhl1*<sup>+</sup> gene.

Based on our findings, we assume that *fhl1* transcription factor of the fission yeast *S. pombe* regulates expression of meiotic genes and nitrogen starvation response. Our data support a model in which *S. pombe* Fhl1 functions in the TOR signal transducing pathway and lies downstream of the TORC1, similarly to its *S. cerevisiae* counterpart gene.

- Regarding the *rsv1* transcription factor, we identified additional orthologous proteins in the *Schizosaccharomyces* group (Rsv1) and in *Candida albicans* (Cas5).
- Pair-wise alignments between orthologous proteins and *S. pombe* Rsv1 showed strong homology in the C2H2 domains. However, conserved regions outside of zinc-finger domain were also found.
- Multiple sequence alignment of the proteins (*S.pombe*, *S.japonicus*, *S. octosporus*, *C.albicans*) revealed evolutionarily conserved amino acids.
- Interspecific complementation analysis revealed that all of the orthologous genes were able to function in *S. pombe*  $\Delta rsv1$  cells. However, complementation abilities of the orthologous genes originated from different species were different, which can be explained by the different lengths of the conserved regions outside of C2H2 domains.

In summary, our results suggest that *S. pombe* *rsv1* gene and its homologues preserved their functional homology and were evolutionarily conserved in the *Schizosaccharomyces* group and in *Candida albicans*.

#### **IV. Irodalomjegyzék. References**

**Grallert A, B Grallert, Zilahi E, Szilagy Z, Sipiczki M** (1999) Eleven Novel sep genes of *Schizosaccharomyces pombe* required for Efficient Cell separation and Sexual differentiation. *Yeast* 15 (8):669-686.

**Hao Z, Furunobu A, Nagata A, Okayama H** (1997) A zinc finger protein required for stationary phase viability in fission yeast. *J Cell Sci* 110 (20): 2557-2566.

**Laor D, Cohen A, Kupiec M, Weisman R** (2015) TORC1 regulates developmental responses to nitrogen stress via regulation of the GATA transcription factor Gaf1. *mBio*7,6(4):e00959-15.

**Martin DE, Soulard A, Hall MN** (2004) TOR regulates ribosomal protein gene expression via PKA and the forkhead transcription factor FHL1. *Cell* 119(7):969–979.

**Martin R, Portantier M, Chica N, Andersen MN, Mata J, and Lopez-Aviles** (2017) A PP2A-B55-Mediated Crosstalk between TORC1 and TORC2 Regulates the Differentiation Response in Fission Yeast. *Curr Biol* 27 (2):175-188.

**Mata J, Lyne R, Burns G and Bahler J** (2002) The transcriptional program of meiosis and sporulation in fission yeast. *Nat Genet* 32(1): 143-147.

**Matsuo T, Otsubo Y, Urano J, Tamanoi F, Yamamoto M** (2007) Loss of the TOR kinase Tor2 mimics nitrogen starvation and activates the sexual development pathway in fission yeast. *Mol Cell Biol* 27(8):3154–3164.

**Miklos I, Szilagy Z, Watt S, Zilahi E, Batta G, Antunovics Z, Enczi K, Bähler J, Sipiczki M** (2008) Genomic expression patterns in cell separation mutants of *Schizosaccharomyces pombe* defective in the genes *sep10* (+) and *sep15* (+) coding for the Mediator subunits Med31 and Med8. *Mol Genet Genomics* 279 (3): 225-38.

**Pan X, Lei B, Zhou N, Feng B, Yao W, Zhao X, Yu Y, Lu H** (2012) “Identification of novel genes involved in DNA damage response by screening a genome-wide *Schizosaccharomyces pombe* deletion library”. *BMC Genomics* 13:662.

## Publikációs lista. Publication list

### A doktori dolgozat témájához kapcsolódó közlemények listája List of the released publications related to the PhD dissertation

#### Folyóiratközlemények. Journal articles:

**Emese Pataki**, Matthias Sipiczki, Ida Miklos (2017) *Schizosaccharomyces pombe rsv1* Transcription Factor and its Putative Homologues Preserved their Functional Homology and are Evolutionarily Conserved. *Current Microbiology* 74: 710.

**Emese Pataki**, Ronit Weisman, Matthias Sipiczki, Ida Miklos (2016) *fh11* gene of the fission yeast regulates transcription of meiotic genes and nitrogen starvation response, downstream of the TORC1 pathway. *Current Genetics* 63: 91.

#### Konferenciaelőadások. Conference presentations:

**Pataki E**, Sipiczki M és Miklós I (2015) Az *fh11* gén és a TOR szignáltranszdukciós útvonal kapcsolatának vizsgálata mutáns *S. pombe* törzsek segítségével. A „Biotechnológia a Debreceni Egyetemen” 2. szimpózium, DAB Székház, Debrecen.

**Emese Pataki**, Ronit Weisman, Mátyás Sipiczki, Ida Miklós (2015) *Fh11* controls transcription of the nitrogen starvation induced genes in cooperation with TORC1 in *Schizosaccharomyces pombe*. 17th International Congress,

Hungarian Society for Microbiology, An Eötvös Scientific Conference, Eötvös Loránd University Convention Centre, Budapest, Hungary, July 8-10, 2015. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 62 (Suppl), pp. 127–241 (2015).

**Emese Pataki**, Ronit Weisman, Matthias Sipiczki, Ida Miklos (2014) Study of the genetic interaction between *fh11* and *tor1/tor2* *S. pombe* genes. EMBO Practical Course- „Molecular genetics with fission yeast” Institut Pasteur, Paris, France, 30 June – 11 July 2014.

Konferenciapozterek. Conference posters:

**Emese Pataki**, Mátyás Sipiczki, Ida Miklós (2015) Interspecific complementation analysis between *Schizosaccharomyces pombe* and *Candida albicans*. 17th International Congress, Hungarian Society for Microbiology, An Eötvös Scientific Conference, Eötvös Loránd University Convention Centre, Budapest, Hungary, July 8-10, 2015. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 62 (Suppl), pp. 127–241 (2015).

**Emese Pataki**, Ida Miklos, Matthias Sipiczki (2013) Microarray analysis of a forkhead transcription factor of *Schizosaccharomyces pombe*. 4th Central European Forum for Microbiology, Keszthely, Hungary, October 16-18, 2013. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 60 (Suppl.), pp. 111–261 (2013).

**Emese Pataki**, Matthias Sipiczki, Ida Miklos (2013). *Rsv1* gene has functional homology in the *Schizosaccharomyces species*. 4th Central European Forum for Microbiology, Keszthely, Hungary, October 16-18, 2013. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 60 (Suppl.), pp. 111–261 (2013).

Anett Madar, **Emese Pataki**, Ida Miklós, I.J. Holb, M. Sipiczki (2012) Conserved transcriptional regulators in the *Schizosaccharomyces* group. Annual Meeting of the Hungarian society for Microbiology, Keszthely, Hungary, 2012. október 24-26.

A doktori dolgozat témájához nem kapcsolódó közlemények listája

List of the released publications not related to the PhD dissertation

Konferenciapozterek. Conference posters:

**Emese Pataki**, Ronit Weisman, Martin Kupiec (2017) Roles of TORC2 in *Schizosaccharomyces pombe*. The Annual Israeli Genome Stability Meeting, Bar Ilan University. 6. April 2017.

**Emese Pataki**, Ronit Weisman, Martin Kupiec (2017) Isolation of hyperactive alleles of Gad8 in *Schizosaccharomyces pombe*. ILANIT 2017, Federation of the Israel Societies for Experimental Biology, Eilat, Israel. 20-23. February 2017.



Nyilvántartási szám: DEENK/392/2017.PL  
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Pataki Emese  
Neptun kód: TR1XAV  
Doktori Iskola: Juhász-Nagy Pál Doktori Iskola

### A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

#### Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (2)

1. **Pataki, E.**, Sipiczki, M., Miklós, I.: Schizosaccharomyces pombe rsv1 Transcription Factor and its Putative Homologues Preserved their Functional Homology and are Evolutionarily Conserved.  
*Curr. Microbiol.* 74 (6), 710-717, 2017. ISSN: 0343-8651.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00284-017-1227-9>  
IF: 1.322 (2016)
2. **Pataki, E.**, Weisman, R., Sipiczki, M., Miklós, I.: fhl1 gene of the fission yeast regulates transcription of meiotic genes and nitrogen starvation response, downstream of the TORC1 pathway.  
*Curr. Genet.* 63 (1), 91-101, 2016. ISSN: 0172-8083.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00294-016-0607-1>  
IF: 3.764





### További közlemények

#### Egyéb folyóiratközlemények (4)

3. **Pataki, E.**, Sipiczki, M., Miklós, I.: Interspecific complementation analysis between *Schizosaccharomyces pombe* and *Candida albicans*.  
*Acta Microbiol. Immunol. Hung.* 62, 197, 2015. ISSN: 1217-8950.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/030.62.2015.Suppl.2>.
4. **Pataki, E.**, Weisman, R., Sipiczki, M., Miklós, I.: *fhl1* controls transcription of the nitrogen starvation induced genes in cooperation with TORC1 in *Schizosaccharomyces pombe*.  
*Acta Microbiol. Immunol. Hung.* 62, 197-197, 2015. ISSN: 1217-8950.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/030.62.2015.Suppl.2>.
5. **Pataki, E.**, Miklós, I., Sipiczki, M.: Microarray analysis of a forkhead transcription factor of *Schizosaccharomyces pombe*.  
*Acta Microbiol. Immunol. Hung.* 60, 212-213, 2013. ISSN: 1217-8950.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/AMicr.60.2013.Suppl.2>.
6. **Pataki, E.**, Miklós, I., Sipiczki, M.: *rsv1* gene has functional homology in the *Schizosaccharomyces* species.  
*Acta Microbiol. Immunol. Hung.* 60, 213, 2013. ISSN: 1217-8950.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/AMicr.60.2013.Suppl.2>

#### Idegen nyelvű absztrakt kiadványok (1)

7. Madar, A., **Pataki, E.**, Miklós, I., Holb, I., Sipiczki, M.: Conserved transcriptional regulators in the *Schizosaccharomyces* group.  
In: A Magyar Mikrobiológiai Társaság 2012. évi Nagygyűlése : Absztraktfüzet, Magyar Mikrobiológiai Társaság, MMT Alapítványa, Keszthely, 29, 2012.

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 5,086**

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 5,086**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudománymetriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2017.11.09.

