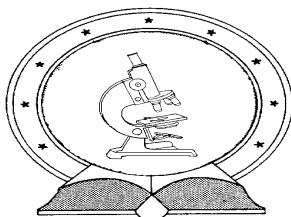


DE TTK



1949

***ASPERGILLUS* FAJOK OXIDATÍV STRESSZVÁLASZA**

Egyetemi doktori (PhD) értekezés

VASSNÉ OROSZ ERZSÉBET

Témavezető neve

Prof. Dr. Pócsi István
egyetemi tanár

DEBRECENI EGYETEM

Természettudományi Doktori Tanács

Juhász Nagy Pál Doktori Iskola

Debrecen, 2018

A doktori értekezés betétlapja

Ezen értekezést a Debreceni Egyetem Természettudományi Doktori Tanács a **Juhász Nagy Pál Doktori Iskola Biológia doktori** programja keretében készítettem a Debreceni Egyetem természettudományi doktori (PhD) fokozatának elnyerése céljából.

Debrecen, 2018.

.....
Vassné Orosz Erzsébet

Tanúsítom, hogy **Doktorjelölt neve** doktorjelölt **2012-2015** között a fent megnevezett Doktori Iskola **Biológia doktori** programjának keretében irányításommal végezte munkáját. Az értekezésben foglalt eredményekhez a jelölt önálló alkotó tevékenységével meghatározóan hozzájárult. Az értekezés elfogadását javasolom.

Debrecen, 2018.

.....
Prof. Dr. Pócsi István

A doktori értekezés betétlapja

ASPERGILLUS FAJOK OXIDATÍV STRESSZVÁLASZA

OXIDATIVE STRESS RESPONSE OF ASPERGILLUS SPP.

Értekezés a doktori (Ph.D.) fokozat megszerzése érdekében
a Biológia tudományágban

Írta: Vassné Orosz Erzsébet okleveles Biológus és Biotechnológus

Készült a Debreceni Egyetem **Juhász-Nagy Pál Doktori Iskolája**
(**Biológia** programja) keretében

Témavezető: Prof. Dr. Pócsi István

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Vasas Gábor

tagok: Prof. Dr. Borbély György

Prof. Dr. Vágvölgyi Csaba

A doktori szigorlat időpontja: 2017. február 24.

Az értekezés bírálói:

.....
.....

A bírálóbizottság:

elnök:

tagok:

.....
.....
.....
.....

Az értekezés védésének időpontja:

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	8
1.1 Célkitűzések	11
2. Irodalmi áttekintés.....	14
2.1 Az <i>Aspergillus</i> nemzetségbe tartozó néhány fontos faj.....	14
2.2 <i>Aspergillus nidulans</i> (<i>Emericella nidulans</i>) fonalas gomba modellszervezet főbb jellemzői.....	15
2.3 A környezeti stressz hatása a kiemelkedő jelentőségű gombákban.....	17
2.3.1 Az oxidatív stressz jellemzése a kiemelkedően kutatott gombákban	19
2.4 A gombák általános oxidatív stresszválasza.....	22
2.4.1 A gombák oxidatív stresszválaszát szabályozó főbb antioxidáns molekulák	22
2.4.2 A gombák oxidatív stresszválaszát szabályozó főbb GSH-függő antioxidáns enzimei	23
2.4.3 A gombák oxidatív stresszválaszát szabályozó főbb GSH-független antioxidáns enzimei	24
2.4.4 A gombák GSH-független antioxidáns molekuláinak szerepe az oxidatív stressz elleni védekezésében	29
2.5 Az oxidatív stresszválasz szabályozása a kiemelkedően fontos gombákban	31
2.5.1 A <i>Saccharomyces cerevisiae</i> gomba oxidatív stresszválaszának szabályozása	31
2.5.2 A <i>Schizosaccharomyces pombe</i> gomba oxidatív stresszválaszának szabályozása	35
2.5.3 A <i>Candida albicans</i> élesztőgomba oxidatív stresszválaszának szabályozása	37
2.6 Az <i>Aspergillus</i> fajok AtfA transzkripció faktorának szerepe	41
2.6.1. Az <i>Aspergillus fumigatus</i> AtfA transzkripció faktorának szerepe	42

2.6.2	Az <i>Aspergillus oryzae</i> AtfA transzkripció faktorának szerepe	43
2.6.3	Az <i>Aspergillus nidulans</i> AtfA transzkripció fehérje	44
3.	Eredmények.....	46
3.1	A vizsgált <i>Aspergillus</i> gombafajok eltérő oxidatív stressztűrése H ₂ O ₂ és MSB kezelést követően	46
3.2	Az <i>atfA</i> deléciójának élettani hatásai az <i>Aspergillus nidulans</i> gombafajban	54
3.2.1	Az <i>Aspergillus nidulans atfA</i> deléciójával megváltozott stresszérzékenysége	54
3.2.2	Az <i>Aspergillus nidulans</i> kontroll és <i>ΔatfA</i> törzsek tenyészetének glutation-peroxidáz, glutaton-reduktáz, kataláz, glükóz-6-foszfát-dehidrogenáz és nitrát-reduktáz enzimaktivitása és szterin tartalma	55
3.3	Az <i>Aspergillus nidulans</i> AtfA transzkripció faktorának hiányában bekövetkezett genomszintű transzkripció változások	57
3.3.1	Az <i>Aspergillus nidulans</i> törzsek kezelt és kezeletlen tenyészetével végzett microarray vizsgálat és az RT-qPCR meghatározás eredményei	57
3.3.1	Az AtfA-függést mutató stresszválasz gének	61
3.4	Az AtfA fehérje hatása az <i>Aspergillus nidulans</i> szekunder metabolit génjeinek expressziójára	69
4.	Eredmények megbeszélése	78
4.1	A vizsgált <i>Aspergillus</i> gombafajok eltérő oxidatív stresszválasza	78
4.2	Az AtfA transzkripció faktor feltételezett szerepe az <i>Aspergillus nidulans</i> oxidatív stresszválaszában	81
4.3	Az AtfA transzkripció faktor hatása az <i>A. nidulans</i> oxidatív stresszválasz elemeire	84
4.4	Az AtfA fehérje szerepe az <i>Aspergillus nidulans</i> szekunder metabolizmusában	87
5.	Anyagok és módszerek	92
5.1	A vizsgált <i>Aspergillus</i> fajok	92
5.2	A vizsgált <i>Aspergillus nidulans</i> törzsek	93

5.3	A vizsgált <i>Aspergillus</i> gombatörzsek tenyésztése	93
5.4	A vizsgált <i>Aspergillus nidulans</i> TNJ 92.4 és THS 30.3 törzsekkel végzett oxidatív stressz kísérletek.....	93
5.5	Alkalmazott táptalajok	94
5.6	A 17 <i>Aspergillus</i> faj oxidatív stressz toleranciájának vizsgálata.....	95
5.7	Az <i>Aspergillus nidulans</i> gombatörzsekkel végzett oxidatív stresszérzékenység vizsgálata.....	97
5.8	Transzkripció vizsgálatok	97
5.8.1	RNS izolálás.....	97
5.8.2	Microarray kísérletek és génexpressziós adatok kiértékelése	98
5.8.3	A transzkripció adatok közötti hasonlóság számítása.....	100
5.8.4	Géndúsulási vizsgálatok	100
5.8.5	Génexpresszió vizsgálata RT-qPCR módszerrel.....	102
5.9	Enzimaktivitás mérések.....	106
5.9.1	Glutation-peroxidáz, glutaton-reduktáz, kataláz, glükóz-6-foszfát-dehidrogenáz és nitrát-reduktáz enzimaktivitások mérése	106
5.10	Az <i>Aspergillus nidulans</i> törzsek kezelt és kezeletlen tenyészetének szterin tartalom meghatározása.....	108
5.11	Az <i>Aspergillus nidulans</i> törzsek kezelt és kezeletlen tenyészetének extracelluláris sziderofór termelés meghatározása	108
5.12	Felhasznált vegyszerek.....	109
6.	Összefoglalás.....	110
7.	Summary.....	115
8.	Köszönetnyilvánítás	120
9.	Hivatkozások	123
10.	Tudományos közlemények jegyzéke	146
11.	Függelékek	148

Rövidítések jegyzéke

ESR	környezeti stresszválasz („environmental stress response”)
GO	gén ontológia („Gene Ontology”)
GSH	redukált glutation
GSSG	oxidált glutation (glutation-diszulfid)
HOG útvonal	(„high-osmolarity glycerol pathway”)
MAPK	mitogén-aktivált protein kináz
MM	minimál táptalaj („minimal medium”)
MSB	menadion-nátrium-biszulfit („mendione sodium bisulfite”)
NSS	nitrátos sóoldat („nitrate salt solution”)
ROS	reaktív oxigénformák („reactive oxygen species”)
RNS	reaktív nitrogénformák („reactive nitrogen species”)
RT-PCR	valós idejű polimeráz láncreakció („real-time polymerase chain reaction”)
RT-qPCR	reverz valós idejű kvantitatív polimeráz láncreakció módszer („reverse transcription quantitative real-time polymerase chain reaction assay”)
SDS	nátrium-dodecil-szulfát („sodium dodecyl sulphate”)
<i>t</i> BOOH	<i>tert</i> -butil-hidroperoxid
TRIsol	RNS izolálásra kifejlesztett reagens
γ GT	γ -glutamiltranszpeptidáz

1. Bevezetés

A stresszel minden élőlénynek meg kell küzdenie, ez az élet természetes része. Selye János fogalmazta meg a szó jelentését, amely szerint egy szervezet vagy sejt stressznek kitéve a nem specifikus ingerekre nem specifikus módon, egy adott általános adaptációs szindrómával reagál (Selye, 1950).

A gombák hatékony eszközöket fejlesztettek ki a különböző környezeti stressz típusok érzékelésére és leküzdésére, amely megmagyarázza, hogyan képesek a különböző ökológiai helyek hatékony elfoglalására.

Oxidatív stressz alatt a reaktív oxigénformák (ROS) száma és koncentrációja kórosan megnövekszik a sejten belül, amely a redox homeosztázis felborulását eredményezi. Az oxidatív stressz következtében lipidperoxidáció, továbbá fehérje és DNS degradáció jön létre. A reaktív oxigénformák mind eukarióta mind prokarióta sejtekben a különböző anyagcsere folyamatok révén szabadulnak fel. Mérsékelt, esszenciális mennyiségben általánosan részt vesznek a fonalas gombasejt szabályozó folyamataiban is, mint például *Aspergillus* fajokban a vegetatív növekedés és aszexuális spóráképzés közötti morfogenetikus átmenetben (Circu és Aw, 2010, Hernández-Oñate, 2012; Gyöngyösi és mtsi, 2013).

Az oxidatív stressz alatti ROS mennyiségének fenntartását szabályozó folyamatokról számos adat áll rendelkezésünkre (Toledano és mtsi, 2003; Angelova és mtsi, 2005). A gombákban a reaktív oxigénformák jó néhány funkcióért felelnek. Részt vesznek a sejtek differenciálódásában, öregedésében, és fontos szerepet játszanak a sejtek apoptózisának

kiváltásában is (Madeo és mtsi, 1999; Laun és mtsi, 2001; Ludovico és mtsi, 2002; Mazzoni és mtsi, 2003).

Több évtizede már, hogy a gombák szabályozási útvonalainak feltárása a mikrobiológiai kutatások egyik legfőbb témáját adják. Számos olyan gombafaj létezik, amelyeket modellszervezetként könnyen vizsgálhatunk, és általuk a nehezebben tanulmányozható rokon gombafajokra vonatkozóan is könnyebben juthatunk alapvetően fontos információkhoz. Mivel ezek eukarióta szervezetek, a gombákat tanulmányozva nem csupán más gombafajokat ismerhetünk meg részletesebben, hanem növényi, állati és akár humán sejtekben zajló szabályozó folyamatokkal kapcsolatban is irányadó lehet a velük folytatott kutatás. Továbbá, a gombák az élelmiszer- és a gyógyszeriparban is kiemelkedően fontos szerepet töltenek be, így a kutatások révén kapott ismeretek hatékonyan felhasználhatók új élelmiszer fermentációs technikák illetve gyógyszeralkotók, vagy enzimek kifejlesztéséhez. Mindemellett a legyengült immunrendszerű egyéneket, főleg AIDS fertőzötteket, daganatos vagy transzplantáción átesett betegeket különböző gombatörzsek fertőzhetnek, melynek következményeként egyre növekszik az invazív mikózisok előfordulási gyakorisága. A gombák élettani funkcióit feltárva új típusú, hatékonyabb védekező módszerek, mint például új antifungális szerek fejleszthetők a humánpatogén gombafajok okozta fertőzésekkel szemben is (Scazzocchio, 2009; Houbroken és mtsi, 2014).

A gombák oxidatív stresszválasza a modern mikrobiológia intenzíven tanulmányozott területe, amely segíthet megfejteni a gombák stresszhez való gyors alkalmazkodási stratégiáit. Mindez segíthet választ adni arra a kérdésre, hogy a gombák hogyan képesek gyorsan adaptálódni az állandóan változó környezethez, ezen belül a stressz jelátvitel és szabályozás molekuláris mechanizmusainak a módosítására. Az eddigi megfigyelések

szerint oxidatív stressz általánosan jelen van a gazda–patogén kapcsolatokban, mint például a humán opportunista patogén *Candida albicans* gomba által okozott fertőzéskor (Dantas és mtsi, 2015), valamint a szintén opportunista patogén *A. fumigatus* indukálta invazív aszpergillózis folyamatában (Dagenais, 2009). Emellett oxidatív stressz szintén gyakran előfordul a mikroorganizmusok általi nehézfém bioszorpcióban, amelynek során a gomba vagy baktérium sejtek felületén vagy magukban a sejtekben nehézfém ionok kötődnek meg. Ilyen nehézfém kötő gombák lehetnek az *A. fumigatus*, *A. clavatus* és *A. oryzae* fajok (Gunjal és mtsi, 2017). Továbbá oxidatív stressz jön létre a környezetidegen, nem természetes anyagokat, a xenobiotikumokat lebontó folyamatokban. Például Ameen és munkatársai kimutatták, hogy az *A. fumigatus*, az *A. niger* és *A. terreus* a textiliparban széles körben használt azofestékeket tartalmazó szennyvizek tisztításában hatékonyan felhasználhatók lehetnek (Ameen és mtsi, 2017).

Az *Aspergillus* nemzetséghez tartozó ismert gombák száma egyre növekszik, és egymástól nagyon eltérő élettani tulajdonságaik miatt gyakorlati felhasználásuk is egyre szélesebb körű. Találhatunk köztük élelmiszer- és gyógyszeriparban hasznos fajokat, mint például a keleti konyhakultúrában hasznos *A. oryzae*-t, és a citromsav-gyártásban fontos *A. niger*-t (Papagianni, 2007; Pel és mtsi, 2007; Francis és mtsi, 2003; Vandenberghe és mtsi, 2000). Ugyanakkor léteznek veszélyes mikotoxinokat termelő *Aspergillus*ok is, amelyek állati és növényi betegségeket okozhatnak. Ilyen gomba például a humán opportunista patogén *A. fumigatus* (Dagenais és mtsi, 2009; Latgé, 2001), az aflatoxint termelő *A. flavus* (Kozakiewicz, 1995), a patulin toxint termelő *A. clavatus* (Wortman és mtsi, 2006; Payne és mtsi, 2006), vagy az ochratoxin A bioszintézisére képes *A. ochraceus*, *A. carbonarius* és *A. niger* fajok (Bui-Klimke és Wu, 2015). Mindezért, ezen

gombacsoport változatos genetikai és élettani jellemzőinek a feltárása az elmúlt néhány évtized mikrobiológiai kutatásainak egyik központi területe.

A fonalas gombák közül számos *Aspergillus* nemzetségbe tartozó fajt használnak modellként a jelátviteli és genetikai folyamatok mélyebb szintű megértésére. Ilyen jelentős faj az *A. nidulans* és az *A. (Neosartorya) fischeri* is. Kutatásban való gyakori felhasználásuk oka az, hogy genetikailag igen jól jellemzett organizmusokról van szó (Martinelli és Kinghorn, 1994; Wyatt és mtsi, 2015; Miskei és mtsi, 2009; Rydholm és mtsi, 2006). Az *A. nidulans* gomba egy igénytelen, laboratóriumi körülmények között könnyen tenyésztethető faj, genomja teljesen ismert (Martinelli és Kinghorn, 1994). Az *A. nidulans* általánosan alkalmazott modellorganizmus a molekuláris biológiában, többek között a sejtciklus szabályozásának vizsgálatában vagy rekombinációs technikákban alkalmazva (Sijmen és mtsi, 2007; Oakley és mtsi, 1981). Ezáltal az *A. nidulans* felhasználása egyre kiterjedtebb a molekuláris biológiai kutatásokban, amelyek eredményeként még pontosabb információkhoz juthatunk például a gomba stresszválasz folyamatainak a szabályozásáról.

1.1 Célkitűzések

Az *Aspergillus* nemzetségbe tartozó gombafajok tehát ipari és biomedikai szempontból egyaránt igen fontosak és kutatottak, viszont stresszvédelmi rendszereikről keveset tudunk. A *Saccharomyces cerevisiae* élesztő gomba stresszvédelmi rendszeréről és ennek szabályozóiról számos adat áll rendelkezésünkre, a pékélesztő azonban az *A. nidulans* fonalas gombától filogenetikailag viszonylag messze lévő faj (Taylor, 1993; Toledano és mtsi, 2003). Korábban számos új információt írtak le az *A. nidulans* oxidatív stresszválaszáról. Többek között különböző stresszválaszokban résztvevő szabályozó fehérjéket (pl. FlbA (az aszexuális sporuláció negatív regulátora),

RgsA, az aszexuális sporuláció pozitív regulátora) (Yu és mtsi 1996; Han és mtsi, 2004;) és transzkripciós faktort (pl. AtfA) is sikerült feltárniuk a kutatóknak (Emri és mtsi, 2015; Yin és mtsi, 2013; Lara-Rojas és mtsi, 2011; Balázs és mtsi, 2010; Hagiwara és mtsi 2009, 2008). Ennek eredményeképpen ennek a fajnak a stresszvédelmi mechanizmusainak a megismerése még inkább az érdeklődés középpontjába került.

A Debreceni Egyetem Biotechnológiai és Mikrobiológiai Tanszékén mára már számos oxidatív stressz szabályozó mechanizmust tártak fel (Bakti és mtsi, 2017; Leiter és mtsi, 2016, 2012; Jakab és mtsi, 2015; 2014; Emri és mtsi, 2015; Spitzmüller és mtsi, 2015; Kovács és mtsi, 2014; Balázs és mtsi, 2010). Ezen belül pl. néhány jelentős szerepet játszó bZIP-típusú transzkripciós faktort is jellemeztek. Ilyen az *A. nidulans* szekunder metabolizmusának helyreállításában fontos RsmA („restorer of secondary metabolism”) fehérje, vagy az oxidatív és ozmotikus stresszválaszban jelentős NapA és AtfA transzkripciós faktorok (Yin és mtsi, 2013; Balázs és mtsi, 2010; Miskei és mtsi, 2009).

Doktori munkám során 18 *Aspergillus* törzset (két *A. niger* törzs) reprezentáló 17 *Aspergillus* faj oxidatív stressz vizsgálatában vettem részt.

A kiválasztott fajokkal oxidatív stressz vizsgálatokat végeztünk alábbi szempontok szerint:

- Célul tűztük ki a 17 *Aspergillus* gombafaj összehasonlító genomikai és élettani elemzését.
- Fő célunk volt, hogy kiválasszunk közülük egy olyan gombafajt, amelyet a jövőben hatékonyan felhasználhatunk, mint modellorganizmust az *Aspergillus*ok vagy más fonalas gombák stresszválaszát megcélzó kutatásokban.

- Ezért az *A. nidulans* gombafaj oxidatív stresszválaszát vizsgáltuk részletesebben. Ennek során az *A. nidulans* kontroll és $\Delta atfA$ törzsével transzkriptomikai és molekuláris genomikai kutatást végeztünk.
- Választ kerestünk arra a kérdésre, hogy vajon az AtfA (lokusz ID AN2911) transzkripció faktor hogyan vesz részt az *A. nidulans* környezeti stresszválasz génejinek szabályozásában?
- Végül jellemztük az AtfA fehérje *A. nidulans* oxidatív stresszválaszában betöltött szabályozó funkcióját.

2. Irodalmi áttekintés

2.1 Az *Aspergillus* nemzetségbe tartozó néhány fontos faj

Az *Aspergillus* nemzetség az Ascomycota törzs Eurotiomycetes osztályába tartozik, amelyen belül pedig az Eurotiales rend Trichocomaceae gombacsaládhoz tartozik. Az *Aspergillus* nemzetségbe sorolt fajok száma jelenleg 350 körülire tehető, mely folyamatosan növekszik (Samson és mtsi, 2014).

Jó néhány *Aspergillus* fajt, mint modellt felhasználnak az Ascomycota törzs vizsgálatára és genetikai tulajdonságainak a pontos megértésére. Az *Aspergillus* fajok jól alkalmazhatók különböző módszerek kidolgozására, amelyek segítségével hatékonyabb, új típusú antifungális szerek létrehozását célozzák meg a kutatók, vagy különböző metabolitok, enzimek előállítása érdekében olyan nagyobb stressztűrő képességgel rendelkező törzsek kifejlesztésére vállalkozhatnak, melyeket az iparban hasznosíthatnak. Nagy jelentőségű és intenzíven kutatott fajok például az *A. oryzae*, az *A. flavus*, és *A. niger*, és az *A. clavatus* is. Az *A. oryzae* a kínai és japán ételkülönlegességek fermentálására használt mikroorganizmus, az *A. flavus* az *A. parasiticus* fajhoz hasonlóan aflatoxin termelő, míg az *A. clavatus* patulin toxint termelő fajként ismert (Kozakiewicz, 1995; Payne és mtsi 2006; Wortman és mtsi, 2006). Az előbbiekhöz hasonlóan az *A. niger* jelentős extracelluláris hidroláz, többek között glükóz oxidáz, proteáz, valamint kiemelkedő szerves sav, pl. glükuronsav és citromsav termelése miatt vizsgált és az iparban felhasznált gombafaj (Pel és munkatársai, 2007). Emellett az *A. terreus*-t itakonsav és *cis*-akonitsav termelése teszi az egyik leginkább vizsgált *Aspergillus* fajjává, emellett kiemelkedő produktuma a lovasztatin, amely a vér koleszterinszintjének a csökkentését teszi lehetővé a humán gyógyászatban (Okabe és mtsi, 2009; Patil és mtsi, 2011).

Számos, kiemelkedő jelentőségük miatt kutatott *Aspergillus* faj (*A. acidus*, *A. aculeatus*, *A. brasiliensis*, *A. carbonarius*, *A. clavatus*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. glaucus*, *A. nidulans*, *A. niger*, *A. oryzae*, *A. sydowii*, *A. terreus*, *A. tubingensis*, *A. versicolor*, *A. wentii*, *Neosartorya fischeri*) stresszválaszát vizsgáltam. A részemről leginkább tanulmányozott fajok közé tartozik a humán opportunistá patogén *A. fumigatus*, *A. flavus* és az *A. terreus*, az iparilag fontos *A. niger* és *A. oryzae*, és a már jól jellemzett modellszervezetek, mint pl. *A. nidulans* (Benoit és mtsi, 2013; Arnaud és mtsi, 2011; Perrone és mtsi, 2007; Rokas és mtsi, 2007; Alker és mtsi, 2001).

Az *A. fumigatus* egy humán opportunistá patogén gomba, mely legyengült, immunszupresszált betegekben (pl. AIDS fertőzöttekben, transzplantált vagy leukémiás betegekben) tüdőaszpergillózá okoz (Samson és mtsi, 2004).

Az élelmiszeriparban kiemelkedően fontos *A. oryzae* házáasítása mintegy 2000 évvel ezelőtt kezdődött és jelenleg a szójaszósz és a szaké termelésére is felhasználják a hagyományos japán és kínai konyhakultúrában. Mikotoxin termelés nem figyelhető meg ennél a fajnál, biztonságosan felhasználható „GRAS” („Generally Recognized as Safe”; az USA Élelmiszer és Gyógyszerügyi Hatósága (FDA; „Food and Drug Administration”) által besorolt} szervezet (Machida és mtsi, 2005).

2.2 *Aspergillus nidulans* (*Emericella nidulans*) fonalas gomba modellszervezet főbb jellemzői

Az *A. (Emericella) nidulans* fonalas gomba az *Aspergillus* nemzetség tagjaként, a talajban és növényi maradványokban élő szaprofita gomba, amely emberre nézve nem, vagy alig patogén (Winter és mtsi, 1884). Laboratóriumi körülmények között is könnyen indukálható ivaros és paraszexuális szaporodású gombáról van szó (Etxebeste és mtsi, 2010). In

vitro számos szén- és nitrogénforráson képes növekedni, valamint a nitrát minimál tápközeget is jól hasznosítja (Hynes, 1973). Viszonylag gyors növekedésű faj, melynek a pigmentált konídiumai adják a telepei zöld színét (Oliver, 1972).

Szekunder metabolitokat, mint például penicillint és az aflatoxin prekurzorát, a szterigmatocisztint is termeli, ezért felhasználják antibiotikumokkal (Sweeney és Dobson, 1998; Keller 1997, 2005; Spörte, 2009) és mikotoxinokkal kapcsolatos kutatásokban (Reijula és mtsi, 2003; Shimizu és Keller, 2001), valamint extracelluláris enzimtermelés vizsgálatokban is (Emri és mtsi, 2008).

Emellett a klasszikus és molekuláris genetika területén napjaink leggyakrabban alkalmazott és tanulmányozott fonalas gomba modellszervezete (Sijmen és mtsi, 2007; Pócsi és mtsi, 2005; Martinelli és Kinghorn, 1994; Oakley és munkatársai, 1981). Ennek oka könnyen kivitelezhető laboratóriumi tenyésztése mellett az, hogy teljes genomszekvenciája ismert, így több adatbázist is létrehoztak, amelyek segítségével könnyen azonosíthatjuk a faj bizonyos génjeit (Etxebeste és mtsi, 2010; Sims és mtsi, 2004; <http://www.aspergillusgenome.org/>). Számos vektor, génkönyvtár és *A. nidulans* mutáns törzs áll a kutatók rendelkezésére (Nayak és mtsi, 2006; Hoffmann és mtsi, 2001; Brody és mtsi, 1991). Emellett ez a gombafaj az eukarióta sejtbiológiában rendszeresen alkalmazott modell a sejtciklus szabályozás, a DNS-hibajavítás („repair”) és rekombináció vizsgálatokban is (Kafer és mtsi, 2008; Sijmen és mtsi, 2007; Galagan és mtsi, 2005; Oakley és mtsi, 1981). Napjainkban már a teljes genomot reprezentáló az *A. nidulans* fonalas gombára kifejlesztett DNS-chipek is hozzáférhetők (Sims és mtsi, 2004). Továbbá említést érdemel az, hogy az *A. nidulans*t, mint eukarióta modellt, sikeresen felhasználják az 1-es

típusú tirozinémia és az alkaptonúria humán örökletes betegségek genetikájának tanulmányozására (Fernández-Canón és Penalva, 1995; Rodriguez és mtsi, 2000).

2.3 A környezeti stressz hatása a kiemelkedő jelentőségű gombákban

A gombák a környezeti stressz érzékelésére számos mechanizmust fejlesztettek ki evolúciójuk folyamán, és a változó körülményekhez való állandó alkalmazkodásuk által nagyon különböző élőhelyeken is életképesek tudnak maradni (Nikolaou és mtsi, 2009, Gasch 2007).

Stressz alatt egy sejtben specifikus reakciók jönnek létre minden olyan ingerre, amely a sejtet kibillenti eredeti redox egyensúlyából. Ennek következtében a sejt alkalmazkodik a megváltozott körülményekhez. A létrejött „adaptációs szindróma” az alábbi folyamatokból épül fel: 1. Vészreakció (alarm), 2. Altív ellenállás fázisa, 3. Kimerülés állapota (Selye, 1950).

Emellett a stressz keresztvédelem jelensége szintén széles körűen megfigyelhető a gombák között. A stressz keresztvédelem esetén egy gomba, növény, állat, vagy akár maga az ember is, bizonyos enyhe stressznek kitéve védelmet élvezhet más típusú stresszekkel szemben (Chauhan és mtsi, 2015; Kensler és mtsi, 2007; Matsumoto és mtsi, 2007; Charng és mtsi, 2006; Zhao és mtsi, 2006; Chinnusamy és mtsi, 2004; Durrant és Dong, 2004; Hahn és mtsi, 1989). Ezáltal a gombák is nagyobb dózisu, akár ugyanolyan típusu, akár teljesen eltérő környezeti stresszek leküzdésére képesek (Brown és mtsi, 2014). A gombák e tulajdonsága szintén elősegítette, hogy ökológiailag még sikeresebbé váljanak (Nikolaou és mtsi, 2009; Gasch 2007). A stressz keresztvédelem hátterében a környezeti stressz különböző típusaiban szerepet játszó stressz-specifikus géncsoportok állhatnak, melyek tagjai az ún.

környezeti stresszválasz gének, vagy ESR gének („Environmental Stress Response” genes) (**1. táblázat**). Számos gombafajban azonosítottak már ESR-géneket, mint pl. a *S. cerevisiae*, *C. albicans*, és *C. glabrata* élesztőgombákban. Így például az Msn2/4 C2H2 cink-ujj típusú transzkripciós faktor mesterregulátor fehérjeként működik közre a *S. cerevisiae* és a *C. glabrata* stresszválaszaiban (**1. táblázat**). Amíg a *S. cerevisiae* esetében körülbelül 900 gén vesz rész a környezeti stresszválaszában, addig a *C. glabrata* esetében 752 ilyen génnel számolhatunk (Roetzer és mtsi, 2008; Gasch és mtsi, 2000). A *C. albicans* élesztőgomba esetében viszont a Hog1 stressz aktivált protein kináz a különböző stressz folyamatokban viszonylag kevés ESR gén (csak 61) szabályozásában vesz részt. Ennek oka, hogy a *HOG1* főleg ozmotikus és nehézfém stressz estében aktiválódik. A *C. albicans* oxidatív stressz regulátora a Cap1 transzkripciós faktor. (Enjalbert és mtsi, 2006). Valószínűleg az ESR gének aktiválódása és gátlása függ a stressz erősségétől és az adott gomba szaporodásától (Slavov és mtsi, 2012; Brauer és mtsi, 2008). Az *S. pombe* hasadó élesztőben a környezeti stresszválasz szabályozásában a Sty1 (*S. cerevisiae* Hog1 ortológ) fehérje vesz részt, mint mesterregulátor. Chen és munkatársai feltárták, hogy a *S. pombe* gombában oxidatív stressz hatására bekövetkező teljes transzkripciós változás és szabályozás a stressz mértékétől függ, illetve kisebb részben egy bZIP-típusú transzkripciós faktor, a Pca1 hiányától vagy meglétéről is, amely fehérje heterodimert alkot az Atf1 fehérjével (Chen és mtsi, 2003).

Az *Aspergillus* fajok oxidatív stressz elleni védelméről sajnos még mindig kevés információval rendelkezünk, az *Aspergillusok* környezeti stresszválaszában (ESR) meglétéről vagy éppen hiányáról pedig lényegében semmilyen adat nem állt rendelkezésünkre a kutatás megkezdésekor. Az

*Aspergillus*ok stresszválasz rendszereinek részletesebb megismerése segíthet például új antifungális célpontok felderítésében, illetve a toxikus *Aspergillus* gombák veszélyes mikotoxin termelésének kontrollálásában.

1. táblázat A különböző gombafajok ESR jellemzői.

Fajok	Gének száma	Különböző stresszekre általánosan reagáló gének	ESR regulátor	Hivatkozás
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5907 (WGD ^a)	868	Msn2/4	Gasch et al. (2000)
<i>Candida glabrata</i>	5214 (WGD ^a)	752	Msn2/4	Roetzer et al. (2008)
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	5123	140	Sty1	Chen et al. (2003)
<i>Candida albicans</i>	6219	61	Hog1	Enjalbert et al. (2006)
<i>Aspergillus nidulans</i>	10678	116	?	Emri et al. (2015)

^a - WGD: („whole genome duplication”) „teljes genom duplikáció” (Emri és mtsi, 2015).

2.3.1 Az oxidatív stressz jellemzése a kiemelkedően kutatott gombákban

Oxidatív stressz alatt reaktív oxigénformák jönnek létre, melyek között megtalálhatjuk a szinglet oxigént ($^1\text{O}_2$), a hidrogén-peroxidot (H_2O_2), a szuperoxid gyök aniont ($\text{O}_2^{\bullet-}$) és a hidroxil szabadgyököt ($\text{OH}^{\bullet}$) (Halliwell és Gutteridge, 1999). A reaktív oxigénformák kifejezés nem csak szabadgyököket foglal magába, hanem a H_2O_2 mellett a hipoklórossav (HOCl) is idetartozik, amelyet a neutrofil granulociták termelnek mieloperoxidáz enzimük által a gyulladásos folyamatokban. Ez utóbbi reaktív oxigén fajták párosítatlan elektront nem tartalmaznak, de reaktivitásuk a szabad gyökökhöz hasonló. Reaktív oxigénformák elsősorban az aerob légzési láncához kapcsolódóan a mitokondriumban termelődnek, az

oxidatív foszforiláció folyamatában, továbbá a zsírsav metabolizmus, és a fotoszintézis révén is képződhetnek (Ray és mtsi, 2012).

A reaktív oxigénformák a környezettől függően mind előnyös, mind káros hatásúak is lehetnek a sejt számára (Glade, 2003; Lopaczynski és Zeisel 2001). Általános élettani funkciójuk, hogy gyulladásos folyamatokban a fertőző ágensek elleni védelemben vesznek részt. A ROS-ok kis koncentrációban pozitív szerepet játszanak a gombák szexuális és aszexuális szaporodásában (Circu és Aw, 2010). Ellenben nagy koncentrációban negatív hatásuk érvényesül, mivel felborítják a sejtek redox egyensúlyát. Ennek következtében károsítják a sejtek makromolekuláit, emellett lipidperoxidációt, továbbá fehérje és DNS degradációt okoznak, illetve felhalmozódásuk által oxidatív stresszt generálva a sejtek pusztulásához vezethetnek (Poli és mtsi, 2004). Hatástalanításukat antioxidáns molekulák végzik azért, hogy a sejten belüli redox egyensúly fennmaradjon. Ilyen kulcsfontosságú antioxidáns molekula például a glutation (GSH), míg az antioxidáns enzimek közül kiemelkedő a GSH-függő antioxidáns enzimek elemei, mint például a glutation peroxidáz, a glutation S-transzferáz és a glutaredoxin (Fahey és mtsi, 1984; Meister és Anderson 1983). Emellett GSH-független antioxidáns enzimek is részt vesznek a ROS hatástalanításában, mint például a katalázok és szuperoxid-dizmutázok (Birben és mtsi, 2012).

A ROS-ok közül a szuperoxid gyökanion ($O_2^{\bullet-}$) és a peroxid anion (O_2^{2-}) meglehetősen stabil ionok. A szuperoxid gyök anion ($O_2^{\bullet-}$) a molekuláris oxigén redukciójából képződik, redukálja a Fe(III)-t, ezáltal a fehérjékben lévő Fe-S klasztereket súlyosan károsítja. A molekuláris oxigén redukciójával jön létre a peroxid anion (O_2^{2-}), de az előzőtől eltérően az oxigén nem egyelektronos, hanem kételektronos redukciója révén. A peroxid

anion (O_2^{2-}) úgy károsítja a fehérjéket, hogy oxidálja a kén tartalmú aminosavakat, ezáltal például metioninból metionin-szulfoxid keletkezik, valamint cisztein oldalláncaiból diszulfid-hidak, valamint szulfenil ($-SO^-$), szulfonil ($-SO_2^-$), és szulfinil ($-SO_3^-$) csoportok alakulnak ki. Szinglet oxigén (1O_2) leginkább a fotoszintézis melléktermékeként képződik, és gyűrűs peroxidokat, szerves hidroperoxidokat képez. A hidroxil-szabadgyök ($OH^\bullet$) a peroxid anionból (O_2^{2-}) származik, annak egyelektronos redukciója által. A hidroxil-szabadgyök ($OH^\bullet$) a ROS között messze a legreakcióképesebb, gyakorlatilag minden szerves makromolekulát károsít.

A különböző antifungális szerek, xenobiotikumok oxidatív stresszt képesek kiváltani a gombákban. (Romero és mtsi 1996). Emellett oxidatív stressz az antioxidáns molekulák koncentrációjának csökkenése miatt is kialakul (Emri és mtsi 1997). A gombákban oxidatív stressz más stressz körülmények, mint például, ozmotikus stressz, hőstressz, illetve szénéhezés miatt kialakuló stressz velejárójaként, vagy következményeként is létre jöhet.

Oxidatív stresszről beszélhetünk akkor is, ha a gombasejtek folyadék fázisból levegőre jutnak, amely sejtdifferenciálódást, mint például konidiogenezist initiálhat (Hansberg és mtsi, 1993).

Sok patogén gombafaj esetében a gazdaszervezet immunrendszerének védekező mechanizmusai okoznak oxidatív stresszt. Például a makrofágok ROS-t képeznek plazmamembránjukban elhelyezkedő NADPH oxidázaik által. Ennek eredményeként O_2 molekulából szuperoxid gyökanion ($O_2^{\bullet-}$) keletkezik, mely megtámadja a kórokozó sejtet, és végső soron elpusztítja azt (Craig és mtsi, 2009).

2.4 A gombák általános oxidatív stresszválasza

Oxidatív stresszre a gombák különböző védekező mechanizmusok bekapcsolásával reagálnak, amely által a sejten belül számos jelátviteli útvonal aktiválódik. Ennek eredményeképpen különböző oxidatív stresszválasz gének expresszálódnak a felhalmozódott ROS hatástalanítására, mint például kataláz és szuperoxid-dizmutáz (Toledano és mtsi, 2003). Gombákban oxidatív stressz leggyakrabban más mikroorganizmusokkal és növényekkel való interakciójuk kapcsán jön létre, továbbá a gombák lignocellulózt lebontó folyamataiban (Breitenbach és mtsi, 2015). A patogén gombákat szintén nagyon gyakran éri oxidatív stressz, amely az emberi szervezetben a neutrofilek támadása révén jön létre (Dantas és mtsi, 2015; Dagenais, 2009), Emellett szekunder metabolitokat, vagy heterológ fehérjéket termelő ipari gombatörzsek tenyésztésekor a fermentorokban lévő magas oxigéntenzio révén is gyakran jön létre oxidatív stressz (Wongwicharn és mtsi, 1999). Az elmúlt néhány évtizedben több publikáció is született a gombák oxidatív stresszét kiváltó okokról és körülményekről, és ennek következtében kialakult védekezési mechanizmusairól (Emri és mtsi, 2015; Komalapriya és mtsi, 2015; da Silva Dantas, 2015; Morano és mtsi, 2012).

2.4.1 A gombák oxidatív stresszválaszát szabályozó főbb antioxidáns molekulák

Számos antioxidáns molekula kiemelkedő szerepet játszik a sejtvédelemben, viszont mennyiségük csökkenése oxidatív stresszt generál (Emri és munkatársai 1997). Az enzimes védekező rendszerük két részből áll, a GSH-tól független és a GSH-függő enzimek csoportjából (Glessner és mtsi, 2007; Pócsi és mtsi, 2004; Toledano és mtsi, 2003; Lee és mtsi, 2002; Bouettner és mtsi, 1993).

A GSH a prokarióta és eukarióta sejten belül egyaránt a legnagyobb mennyiségben jelenlévő tiol vegyület (1.0-10 mmol/l). Sőt, a GSH a legfőbb intracelluláris antioxidáns molekula (Fahey, 2001; Hell, 1997; Meister és Anderson, 1983). Szerkezetét tekintve a GSH γ -L-glutamil-L-ciszteinil-glicin tripeptid molekula (Meister és Anderson, 1983). Szintézisében a γ -L-glutamil-L-cisztein szintáz és a glutation szintáz enzimek vesznek részt. A GSH számos folyamatban részt vesz, többek között az oxidálódott tiol-csoportok redukálásában, valamint a sejt redoxpotenciáljának fenntartásában. Emellett a GSH fontos szerepet tölt be egyes toxikus fémionok detoxifikálásában. A reaktív oxigénformák megjelenésével a GSH molekula glutation-diszulfiddá (GSSG) oxidálódik, amit a glutation reduktáz NADPH felhasználásával alakít vissza GSH-ná. A GSH, mint elektrondonor vesz részt a H_2O_2 semlegesítésében, miközben a peroxiredoxin (Prx) vízzé redukálja azt. Alapvetően megkülönböztetünk monotiol peroxiredoxint és ditiol peroxiredoxint, aszerint, hogy az aktív centrumaikban egy vagy két darab cisztein (Cys) oldallánc helyezkedik-e el. A peroxidok hatástalanítására a monotiol peroxiredoxin a GHS-t, míg a ditiol peroxiredoxin tioredoxint használ fel redukáló erőként cisztein oldalláncaik révén (Pócsi és mtsi, 2004; Wood és mtsi, 2002). GSH-függő és GSH-független antioxidáns enzimek és molekulák vesznek részt a megemelkedett ROS koncentráció elleni védelemben (Pócsi és mtsi, 2004).

2.4.2 A gombák oxidatív stresszválaszát szabályozó főbb GSH-függő antioxidáns enzimek

A **glutation peroxidáz (GPx)** enzim a GSH redukálásával a H_2O_2 hatástalanítása mellett a lipidperoxidok redukálásában szintén részt vesz. Egyes GPx-ok foszfolipid-hidroperoxid peroxidáz aktivitásúak is lehetnek,

amelyek fontos szerepet játszanak a sejtekben zajló lipidperoxidációt gátló folyamatokban (Brigelius-Flohé és mtsi, 2013).

A további, hasonlóan fontos antioxidáns fehérjék közé tartoznak a **glutaredoxinok (Grx)** és a **tioredoxinok (Trx)**. A glutaredoxinok glutation-függő módon olyan fehérje diszulfid-hidakat redukálnak, amelyek a fehérjék ROS hatására oxidálódott szulfhidril-csoportjaiból származnak. Ezáltal a glutaredoxinok a fehérjék redox állapotának helyreállításával fontos szerepet töltenek be a proteinek oxidatív károsodása elleni védekező mechanizmusokban. A glutaredoxin mind monotiol és mind ditiol formában előfordulhat. Emellett a metionin-szulfoxid reduktáz (MSRA) tioredoxin közreműködésével képes az oxidálódott metionin oldalláncok redukálására (Pócsi és mtsi, 2004; Totter és mtsi, 2003; Mustacich és Powis, 2000).

Ezen túlmenően a **glutation S-transzferázok (GST)** szintén kiemelkedő fontossággal bírnak az oxidatív stressz elleni védelemben (Board és Menon, 2013). Részt vesznek különböző toxikus molekulák semlegesítésében, többek között az aldehidek lebontásában. E folyamatban a GST katalizálja a GSH és a toxikus molekulák közötti konjugátum kialakulását, amely így transzportereken keresztül a sejtből ki tud jutni (Board és Menon, 2013). A glutation S-transzferáz családot 3 enzimtípus alkotja, a mitokondriális, citoszólikus és mikroszómális, vagy más néven membránasszociált GST enzimek (Udomsinprasert és mtsi, 2005; Sheehan és mtsi, 2001; Allocati 2009).

2.4.3 A gombák oxidatív stresszválaszát szabályozó főbb GSH-független antioxidáns enzimek

A GSH-tól független antioxidáns funkciójú enzimek közé tartoznak a katalázok, szuperoxid-dizmutázok (SOD) (Pham-Huy és mtsi, 2008).

A **kataláz** enzim hem-tartalmú fehérje, amely a H_2O_2 -ot diszproporcionálja, melynek eredményeképpen víz és O_2 keletkezik (Chelikani és mtsi, 2003).



Szekvenciájuk és szerkezetük alapján a katalázok három csoportját különböztetjük meg. Filogenetikai analízisek alapján kimutatták, hogy a fonalas gombák kataláz enzime két típusú nagy alegységet tartalmazhat (L1 és L2 alegységek, L1 és L2-típusú kataláz enzimek). Amíg az L2-típusú alegységet hordozó enzimek általában a sejten kívül működnek és a stressz elleni védelemben fontosak, addig az L1-típusú kataláz az aszexuális spórákban halmozódik fel. A kétféle kataláz közül az L2-típusú elengedhetetlenül szükséges a növekedésben és a sejt differenciálódásban, az L1-típusú pedig a spórák csírázásában. Az *Ascomycota* törzs tagjaiban még 1-4 kis alegységből álló enzim is megtalálható (Hansberg és mtsi, 2012).

A *S. cerevisiae* pékélesztő tartalmaz egy citoszólikus katalázt, a Ctt1 fehérjét, és egy peroxiszómális lokalizációjú katalázt, a Cta1 enzimet. (Ruis és Hamilton, 1992). A ΔCTT1 és ΔCTA1 egyedi vagy kettős mutánsok fokozott H_2O_2 érzékenységet mutattak (Izawa és mtsi, 1996).

Emellett érdemes megemlíteni, hogy a *C. albicans* élesztősejtek rezisztensebbnek bizonyultak oxidatív stresszre, mint a *S. pombe* és *S. cerevisiae* modell gombaorganizmusok (Enjalbert és mtsi, 2006; 2003). A *C. albicans* kataláz antioxidáns enzimek (Cat1 és Cta1) alapvetően hozzájárulnak ezen humán opportunistá patogén gomba kiemelkedő virulenciájához (da Silva Dantas és mtsi, 2010; Chaves és mtsi, 2007; Martchenko és mtsi, 2004; Hwang és mtsi, 2002).

A *Neurospora crassa* három kataláz fehérjével rendelkezik, a *cat-1*, *cat-2* és *cat-3* gének által kódolt Cat-1, Cat-2 és Cat-3 enzimekkel (Peraza és

mtsi, 2002; Schliebs és mtsi, 2006). A Cat-1 aktivitást konídiumokban, míg a Cat-3-t a késői exponenciális fázisban lévő tenyészetekben detektálták. A Cat-2 esetében pedig kataláz és peroxidáz aktivitást is megfigyeltek, és a késői stationer fázisban, a hifák nagyfokú vakuolizációjakor volt kimutatható. Emellett a Cat-1 katalázok hősokk és etanol hatására indukálódnak, míg a Cat-3 típusú katalázok H_2O_2 , hősokk, nitrát, kadmium és húgysav kezelések esetén (Michán és mtsi, 2003; 2002).

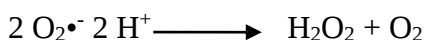
Az *Aspergillus* fajokban is általánosan két kataláz enzim génje található meg. A leginkább kutatott *A. nidulans* gombában a *catA* és *catB* géneket írták le (Navarro és mtsi, 1996; Kawasaki és mtsi, 1997; Navarro és Aguirre, 1998). A kataláz A (CatA) egy spóra-specifikus kataláz fehérje. A CatA génjéről átíródott mRNS-t a növekvő micéliumokban is detektálták, valószínűleg a sporuláció folyamatában indukálódik, és végül a spórákban található meg. Ezzel szemben a kataláz B (CatB) aktivitása az aszexuális sporuláció (konídiumokban) folyamatában alig észlelhető, viszont a micélium növekedésekor és a konídiumképzéskor felhalmozódik. Mindkét kataláz enzim kifejeződése számos stressz hatására indukálódhat. A CatA az oxidatív, ozmotikus stressznek, illetve a nitrogén- és szénéhezésnek kitett vegetatív micéliumokban halmozódik fel. A CatB pedig elsősorban H_2O_2 okozta oxidatív stressz, hősokk és húgysav hatására indukálódik, viszont ozmotikus stressz esetén nem vesz részt a stressz elleni védelemben (Li és mtsi 2009).

Az *A. nidulans* CatA és CatB fehérjék homológjait más *Aspergillus* fajokban is kimutatták, mint például az *A. oryzae* (Hisada és mtsi, 2005) és az *A. fumigatus* gombákban (Takasuka és mtsi, 1999). Az *A. oryzae catA* az aszexuális sporulációkor expresszálódik és a H_2O_2 nincs hatással

kifejeződésére, addig a *catB* gén H₂O₂ expozíció hatására nagymértékben fejeződik ki (Li és mtsi, 2009).

Új típusú kataláz fehérjéket mutattak ki az *A. nidulans* gombában. Az egyik az úgynevezett C-típusú kataláz, CatC fehérje, amelynek génje konstitutívan expresszálódik, és endogén vagy egyéb stressz hatására nem indukálódik (Kawasaki és Aguirre, 2001). Ezen kívül még egy negyedik típusú, CatD fehérjét is kimutattak ebben a fonalas gombában. A D-típusú kataláz fehérje a késői stacioner fázisban lévő glükóz éhezés, magas hőmérséklet, és kisebb mértékű, H₂O₂ okozta stressz hatására termelődhet (Kawasaki és Aguirre, 2001). A *N. crassa* gombában is kimutatták a harmadik (Peraza és Hansberg, 2002) és a negyedik típusú katalázok jelenlétét (Schliebs és mtsi, 2006).

A kataláz enzim mellett kiemelkedően fontos GSH-független fehérje a **szuperoxid-dizmutáz (SOD)** is. Ez az antioxidáns enzim a szuperoxid gyökök (O₂•⁻) diszproporcionálását végzi és ennek eredményeként H₂O₂ és O₂ szabadul fel.



Ez az enzimescsoport megtalálható minden aerob élőlényben. A katalízishez átmeneti fémionok szükségesek, pl. Fe, Mn, Ni vagy Cu-Zn ionok, melynek alapján megkülönböztetünk vas-SOD (FeSOD), réz-cink SOD (Cu,ZnSOD), mangán-SOD (MnSOD) és nikkel-SOD (NiSOD) szuperoxid-dizmutázokat (Fukai és mtsi, 2011; Culotta és mtsi, 2006).

Az *S. cerevisiae* élesztőben két intracelluláris SOD, a *sod2* által kódolt MnSOD és a *sod1* gén által kódolt Cu,ZnSOD található (Fridovich és mtsi, 1995). Az előbbi a mitokondriális mátrixban, az utóbbi a citoszólban és a mitokondrium intermembrán régiójában lokalizálódik (Sturtz és mtsi, 2001; Nedeva és mtsi, 2004; Krumova és mtsi, 2008). A két SOD enzim közül a

Cu,ZnSOD felel a *S. cerevisiae* pékélesztőben lévő SOD aktivitás 90-95 %-áért (O'Brien és mtsi, 2004).

A *C. albicans* élesztőben lévő SOD molekulák jelentősen hozzájárulnak a gomba patogenitásához, ugyanis sejt felszínén más antioxidáns fehérjék mellett extracelluláris szuperoxid dizmutáz enzimek is megtalálhatók. A *C. albicans*ban hat ilyen SOD enzimet különböztetünk meg. A SOD1-3 intracelluláris enzimek, a SOD4-6 pedig glikozil-foszfatidil-inozitol (GPI) tartalmú sejt falhoz kötött enzimek. A réz- és cinktartalmú SOD1 enzimek fagocitózis hatására indukálódnak, és elengedhetetlenek a *C. albicans* makrofágok elleni küzdelmében (Hwang és mtsi, 2002). Az extracelluláris SOD4 és SOD5 enzimek is létfontosságú szerepet játszanak, ugyanis részt vesznek a fagociták által termelt szuperoxid gyökök detoxifikációjában. A két enzim megjelenése függ a *C. albicans* morfológiájától. A SOD4 enzim az élesztő alakban, míg a SOD5 a hifa formákban fordul elő (Fradin és mtsi, 2005).

Általánosságban elmondható, hogy a fonalas gombáknak szintén két különböző típusú szuperoxid-dizmutáz enzimük van. A bennük található MnSOD a mitokondriumban, míg a Cu,ZnSOD a citoszólban található szuperoxid-dizmutázok (Fridovich, 1995; Angelova és mtsi, 2005). A *Penicillium chrysogenum* gombában a menadion-nátrium-biszulfit kezeléssel kiváltott szuperoxid stressz hatására mindkét típusú szuperoxid-dizmutáz gén indukálódott (Emri, Pócsi, és Szentirmai, 1999).

Az iparilag fontos *A. niger* fajban a kutatók négy különböző szuperoxid-dizmutázt tártak fel. Ez a SodA (Motter és mtsi. (2014), SodB (Meyer és mtsi. (2009), SodC (Lu és mtsi (2010) és Sod2 fehérjék (An02g12530, <http://aspergillusgenome.org>). Az *A. fumigatus* humán opportunistá patogén gombának szintén négy eltérő típusú szuperoxid-

dizmutáz enzime van (Lambou, 2010). A Sod1 egy Cu/ZnSOD, amelyet elsőként tüdő aszpergillózisban szenvedő beteg vérsavójában lévő konídiumokban felhalmozódva mutattak ki (Holdom, 2000). Transzkripcióját rézéhezés, menadion-nátrium-biszulfit (MSB) kezelés, valamint magas hőmérsékleten való tenyésztés váltja ki. Emellett megfigyelték, hogy az *A. fumigatus* Sod1 fehérjéje számos mikotoxin hatására is indukálódik. Ilyen mikotoxin lehet a tengeri eredetű gombák által termelt kéntartalmú gliotoxin (Carberry és mtsi, 2012; Scharf és mtsi, 2012; Oberegger és mtsi, 2000). A H₂O₂ szintén kiválthatja a gomba Sod1 fehérjéjének indukcióját (Cagas és mtsi, 2011).

Az *A. nidulans* fonalas gombában három különböző szuperoxid-dizmutáz fehérje játszik fontos szerepet az oxidatív stressz elleni védekezésben, konkrétan a SodA, SodB és a SodM fehérjék. A SodA fehérje egy réz/cink-szuperoxid dizmutáz, amely vas- és rézéhezés következtében indukálódik (Oberegger és mtsi, 2000). A SodB enzim mangán-szuperoxid dizmutáz aktivitással rendelkezik (Oberegger és mtsi, 2001). Ugyan még funkcióját nem igazolták, de feltételezhető, hogy a SodM fehérje is egy MnSOD típusú antioxidáns fehérje (Sato és mtsi, 2009).

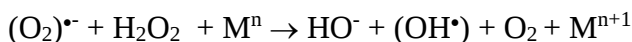
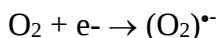
2.4.4 A gombák GSH-független antioxidáns molekuláinak szerepe az oxidatív stressz elleni védekezésében

Az oxidatív stressz elleni védekező folyamatokban kiemelkedően fontos szerepet játszanak a kis molekulatömegű antioxidáns molekulák, mint például a **karotinoidok**. Ezek közül a β -karotin, vagy az asztaxantin az intenzív UV-sugárzás hatására létrejövő ROS hatástalanításában pótolhatatlanok.

Ezenkívül az **E-vitamin** oxidatív stressz ellen nyújtott védőhatása is számottevő. Az E-vitamin hidrofób tulajdonságú, amely képes gátolni a

lipidek peroxidációját azáltal, hogy a reaktív oxigénformákkal közvetlenül reagál. Hasonlóan működik az aszkorbinsav is, amely hidrofil tulajdonsága révén intracelluláris antioxidáns kapacitást biztosít, és elsősorban az oxigén szabadgyökök eliminálásával képes részt venni az oxidatív stressz elleni védelemben (Tamari és mtsi, 2013; Birben és mtsi, 2012; Singh, 2005).

Az ugyancsak GSH-független molekulák közé tartozó **metallotioneninek (MT)** is aktiválódnak oxidatív stressz alatt. Ezek a fehérjék gátolják a Fenton és Haber-Wiess reakciókban keletkező hidroxil szabadgyökök keletkezését. A rendkívül citotoxikus hidroxil gyökök ($\text{OH}^\bullet$) az alábbi egyenletnek megfelelően keletkeznek.



(A fenti reakcióban az „ M^n ” és „ M^{n+1} ” egy adott átmeneti fém vagy félfém különböző oxidációs állapotát jelölik.)

A metallotioneninek (MT) az adott fém/félfém ionok megkötésével gátolják meg ezeket a folyamatokat (Krežel és mtsi, 2017; Schmeisser és mtsi, 2013; Peterson és mtsi, 1995).

További GSH-független molekulák a **citokróm b5 reduktáz** és **citokróm c peroxidáz**, amelyek a légzési lánc elektronjainak felhasználásával redukálják a H_2O_2 -t. A mitokondriális citokróm c peroxidáz redukálódva a H_2O_2 -t oxidálja, miközben víz keletkezik (Yonetani, 1965).

A GSH mellett az oxidatív stressz elleni védekezésben szerepet játszó enzimek jelentős hányadának a fő redukáló erőforrása a NADPH, mely elsősorban a pentóz-foszfát útvonalhoz tartozó **glükóz-6-foszfát dehidrogenáz** és **foszfoglukonát dehidrogenáz** által katalizált folyamatokban keletkezik. Emellett ezek az enzimek a GSH és tioredoxin rendszer működésében látnak el fontos feladatot. Továbbá a GSH szintjét is a

NADPH-függő glutation reduktáz (GR) tartja fenn. A FAD kofaktorokkal rendelkező GR enzimek NADPH-függő reakcióban az oxidált glutation (GSSG) mennyiségét csökkentik. Mindez elengedhetetlen a sejt redox állapotának, azaz a megfelelő redukált (GSH) és oxidált glutation arányának (GSSG) fenntartásához (Dym és Eisenberg, 2001).

2.5 Az oxidatív stresszválasz szabályozása a kiemelkedően fontos gombákban

Az oxidatív stresszválasz szabályozását már számos mikroorganizmusban feltárták. Gombákban külső vagy belső oxidáció hatására egyaránt létrejöhet oxidatív stressz (Wu és mtsi 2011). A gombák közül a *S. cerevisiae* és a *S. pombe* élesztők esetében tanulmányozták részletesen az oxidatív stresszválasz szabályozásának molekuláris hátterét.

2.5.1 A *Saccharomyces cerevisiae* gomba oxidatív stresszválaszának szabályozása

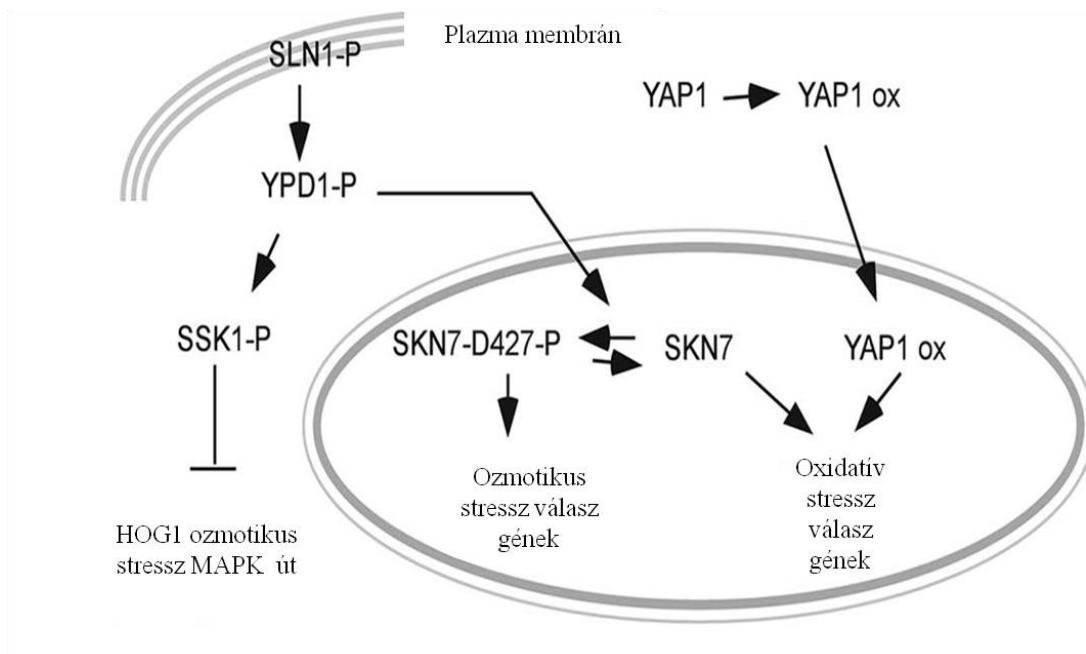
A *S. cerevisiae* gomba oxidatív stresszválasz szabályozását elsősorban a Yap1 és a Skn7, valamint az Msn2/4 transzkripciós faktorok koordinálják (He és mtsi, 2009; Martinez-Pastor és mtsi, 1996).

A Yap1 transzkripciós faktor 30 aminosavból épül fel, és egy leucin-cipzár motívumot és ditiol-csoportot is tartalmaz. Stresszmentes körülmények között a citoszólban helyezkedik el. Képes stressz hatására a sejtmagba bejutni a Pse1 (Kap121) nukleáris import receptoron keresztül, majd innen a Crm1 fehérje juttatja vissza a citoszolba. A Yap1 fehérje elsősorban H₂O₂, tBOOH, diamid, és kadmium (Cd(II)) hatására oxidálódik, benne diszulfidok alakulnak ki, és így azt a Crm1 protein már nem tudja felismerni. Következésképpen a Yap1 a sejtmagban marad, és számos olyan stresszválasz gén expresszióját indukálja, amelyek promóterében megtalálható a Yap1-válaszelem (YRE; Yap1p-response-element)

(Fernandes és mtsi, 1997; Cyert, 2001; Toone és mtsi, 2001). Ilyen stresszválasz gének például a tioredoxin fehérjét kódoló *TRX2*, a tioredoxin-reduktázt kódoló *TRR1* (Kuge és Jones, 1994; Morgan és mtsi, 1997), valamint a glutation szintetáz és a glutation reduktáz génjei, a *GSH1* és a *GLR1* (Wu és Moye-Rowley, 1994; Stephen és mtsi, 1995; Grant és mtsi, 1996).

Az Skn7 a *S. cerevisiae* élesztőben a peroxid stresszválaszban fontos stresszválasz-koordinátor molekula. Az Skn7 más transzkripciós faktorokkal is képes együttműködni, például a Yap1 transzkripciós faktoral asszociálódva indukálja számos gén átírását. Az Skn7 a H₂O₂ által keltett oxidatív stressz alatt aktiválódik és komplexet vagy heterodimert képez. Az Skn7 fehérje a Hsf1 hősokk fehérjéhez hasonlóan konzervált DNS-kötő domént tartalmaz. Az Skn7 fehérje egy DNS-kötő doménen kívül még egy másik, úgynevezett fogadó domént is tartalmaz. A fogadó domén képes kölcsönhatásba lépni a Yap1 ciszteinben gazdag régiójával, és különösen fontos az oxidatív stresszválaszban (Mulford és mtsi, 2011; Krems és mtsi, 1996). Az Skn7 transzkripciós faktor két különböző szignalizációs útvonalon keresztül aktiválódhat. Egyrészt ozmotikus stressz hatására az Sln1 hisztidin kináz foszforilálja az Skn7 D427 aszpartát fogadó doménjét, és ezáltal az Skn7 ozmotikus stresszválasz elemeket indukál. Ezzel szemben az oxidatív stresszválaszban nem szükséges az Skn7 D427 fogadó doménjének Sln1 általi foszforilációja. Az Skn7 sejtmagba történő lokalizációjakor ugyanis együttműködik a Yap1 fehérjével és így számos oxidatív stressz válasz fehérje génjének aktiválásában vesz részt (**1. ábra**). Ilyen gének például a tioredoxint és tioredoxin-reduktázt kódoló *TRX2*, *TRR1*, valamint a tioredoxin-peroxidázt kódoló *TSA1*, illetve a *GPX2* (glutation-peroxidáz),

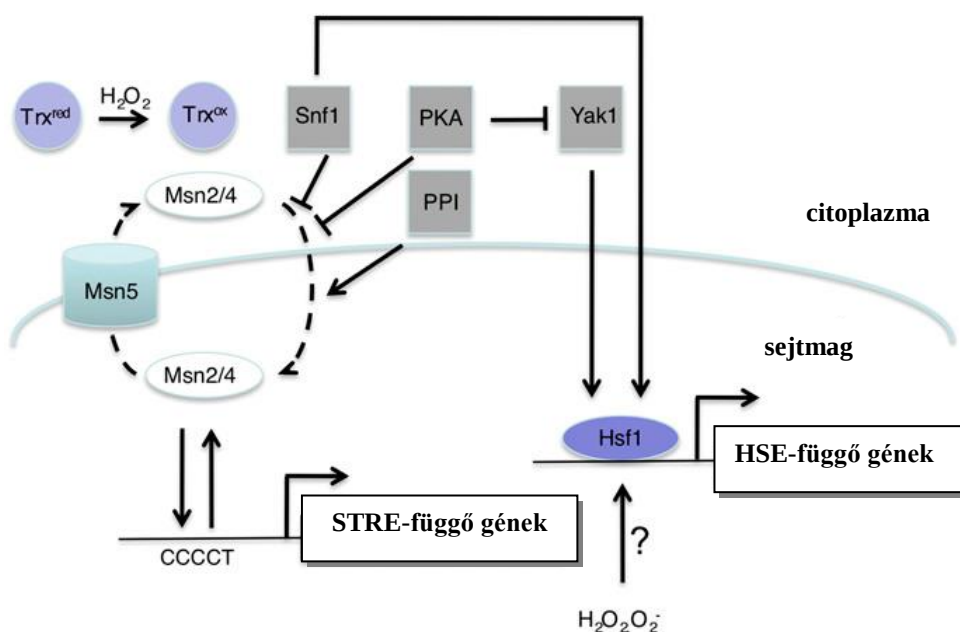
AHP1 (tiol-specifikus peroxidáz génje), *CCP1* (mitokondriális citokróm c peroxidáz génje), és *CTT1* (citoszólikus kataláz T génje) (He, 2009).



1. ábra A *S. cerevisiae* élesztő Skn7 fehérjéjének két különböző jelátviteli útvonalban betöltött szerepe (He és mtsi, 2009). Az SLN1-P, YDP-1, SSK-1 és az SKN7-D427-P a fehérjék foszforilált formái. Az SKN7 D427 doménje foszforilálódik az SLN1 útvonal ozmotikus stressz általi aktivációjának hatására (balra). Az SKN7 oxidatív stressz hatására a YAP1 transzkripciós faktorral lép kölcsönhatásba és vesz részt az oxidatív stresszválasz gének indukálásában (jobbra). Az SKN7 oxidatív stresszválasz szerepe független a D427 fogadó doménjének SLN1 általi foszforilációjától. Az „ox” a YAP1 transzkripciós faktor oxidatív stresszválasz hatására létrejövő ismeretlen módosulásait jelenti.

Ezen túlmenően a *S. cerevisiae* élesztőben az Msn2/4 transzkripciós faktorok, mint „általános stresszválasz” regulátorok számos védekező folyamatot képesek szabályozni. Ezen belül a különböző környezeti stresszhatásoknak kitett élesztő sejtekben számos oxidatív stresszválasz gént

indukálnak. Emellett a Hsf1 hősokk fehérje is fontos szerepet játszik a *S. cerevisiae* stressz elleni védekezésében, mivel ez a transzkripciós fehérje nemcsak a hőstressz alatt aktiválódik, hanem az oxidatív stresszre adott válaszban is (Toledano és mtsi, 2003). A citoplazmában lévő redox folyamatokban résztvevő tioredoxin fehérjék normál, stresszmentes körülmények között megfigyelt redukált állapotukat (Trx^{red}) elveszítik, és oxidálódnak (Trx^{ox}) ha H_2O_2 -dal találkoznak (**2. ábra**). E folyamat következményeként az Msn2 fehérje egyre nagyobb mennyiségben lép be a sejtmagba, ahol a stresszválasz elemekkel (STRE) interakcióba lépve számos stresszválasz gén kifejeződését aktiválja. Ugyanakkor a Hsf1 fehérje a promóter régiójukban hősokk válasz elemeket (HSE) tartalmazó génekkel hat kölcsön (**2. ábra**). Oxidatív stressz alatt a Hsf1 transzkripciós faktort „tápanyag-érzékelő” protein kinázok szabályozzák, mint az Snf1 és a PKA fehérjék. Az Snf1 egy AMP-függő szerin/treonin protein-kináz, amely foszforilálja, ezáltal gátolja az Msn2 aktivációját. A PKA fehérje pedig egy cAMP-függő porein kináz, amely szintén az Msn2 negatív regulátora. A PP1 foszfatáz az Snf1 és PKA általi foszforilációs változások defoszforilációját végzi. A PP1 tehát defoszforilálja az Msn2-t, amellyel negatívan hat az Snf1 aktivációjára, és ezáltal két útvonalat is biztosít az Msn2 aktivációjának. Az Msn2 szabályozza a Yak1 szerin-treonin protein kináz génjének expresszióját, amelyet a PKA foszforilál és ezáltal gátolja a Yak1 fehérjét. A Yak1 kevés rendelkezésre álló glükóz jelenlétben foszforilálja és aktiválja az Msn2/4 és Hsf1 fehérjéket (Morano és mtsi, 2012; Mayordomo és mtsi, 2002; Estruch és mtsi, 1993) (**2. ábra**).



2. ábra *S. cerevisiae* élesztőben lévő Msn2/4 és Hsf1 transzkripciós faktorok szabályozása (Morano és mtsi, 2012). Az Msn2/4 regulálásában növekedést szabályozó fehérjék és oxidatív stresszválasz fehérjék vesznek részt. A normál esetben redukált állapotban lévő tioredoxin (Trx^{red}) H_2O_2 hatására oxidálódik (Trx^{ox}). Ennek hatására az Msn2 fehérje belép a sejtmagba ahol olyan génekkel lép kölcsönhatásba, amelyek promóterükben stresszválasz elemet (STRE) tartalmaznak. A Hsf1 hő sokk fehérje a sejtmagban hő sokk válaszelemet (HSE) tartalmazó génekkel lép kapcsolatba. A Hsf1 szintén az Snf1 és a PKA szabályozása alatt áll, illetve ismeretlen mechanizmus révén az oxidatív stressz is hatással van aktivációjára.

2.5.2 A *Schizosaccharomyces pombe* gomba oxidatív stresszválaszának szabályozása

Az eddigi kutatási eredmények azt mutatják, hogy a fonalas gombák - így az *Aspergillus* fajok is - filogenetikailag közelebb állnak az *S. pombe* hasadó élesztőhöz, mint a *S. cerevisiae*hez (Wang és mtsi, 2009; Kuramae és mtsi, 2006). A *S. pombe* élesztőben az az Spc1/Sty1 MAP kináz az ESR (környezeti stresszválasz) központi eleme. Ez a fehérje funkcionálisan ortológ a *S. cerevisiae* Hog1 MAP kinázzal (YLR113W). Az Spc1/Sty1

MAPK szignál útvonal nagyszámú fiziológiai folyamatra van hatással. Befolyásolja a szexuális differenciálódást, a mitotikus osztódást, továbbá az ozmotikus, oxidatív, hő és egyéb környezeti stresszválaszt (Millar, 1999; Toone és Jones, 1999; Millar és mtsi, 1995; Shiozaki és Russell, 1995; Degols és mtsi, 1996; Kato és mtsi, 1996; Degols és Russell, 1997; Shieh és mtsi, 1997; Toone és mtsi, 1998). Az Spc1/Sty1 MAP kináz útvonal oxidatív stressz esetén Mak1-3 hisztidin kinázok által aktiválódik (Toledano és mtsi, 2003). Az Spc1/Sty1 MAPK kaszkád oxidatív, ozmotikus, hő, H₂O₂, UV, és más egyéb stressz hatására aktiválódik (Millar és mtsi, 1995; Degols és mtsi, 1996; Wilkinson és mtsi, 1996; Degols és Russell, 1997; Shieh és mtsi, 1997). Számos más transzkripció faktor működésére hat, közülük a legfontosabb az Atf1 és a Pap1 fehérjék. Ez utóbbi nagyfokú homológiát mutat a *S. cerevisiae* a Yap1 transzkripció faktorával, amely az oxidatív stresszválasz központi szabályozója. Mindkét fehérje bZIP-protein, és oxidációt követően a sejtmagban akkumulálódnak (Toone és mtsi, 1998).

Az *S. pombe* Atf1 transzkripció faktora Spc1/Sty1 MAPK szabályozás alatt áll és szubsztrátja is ennek a kináznak, akárcsak a Pap1 oxidatív stressz válasz regulátor fehérje, amely elsősorban alacsony H₂O₂ hatására aktiválódik (*S. cerevisiae* Yap1 homológ) Ugyanakkor az Atf1 fehérje génjének expresszióját a növekvő H₂O₂ szint indukálja (Chen és mtsi, 2003; Takeda és mtsi, 1995; Kanoh és mtsi, 1996; Shiozaki és Russell, 1996; Wilkinson és mtsi, 1996). A $\Delta atf1$ *S. pombe* törzsek sterilek voltak, és nem éltek meg a stacioner fázist (Takeda és mtsi, 1995; Shiozaki és Russell, 1996; Wilkinson és mtsi, 1996). Az Atf1 fehérje H₂O₂ hatására oxidatív stresszválaszt indít el, ellenben az Atf1 hiányában a Pap1 transzkripció faktor szabályozza *S. pombe* oxidatív stresszválaszát (Toone, 1998; Toledano és mtsi, 2003).

2.5.3 A *Candida albicans* élesztőgomba oxidatív stresszválaszának szabályozása

A *C. albicans* gombafaj oxidatív stresszválaszáról is számos kutatási eredmény látott napvilágot (Nagahashi, 1998; Wenzel, 1995; Fradin és mtsi, 2005; Enjalbert, és mtsi, 2006; Jakab és mtsi, 2014, 2015; Bertóti és mtsi, 2016). A *C. albicans* élesztőben három különböző útvonal is indukálódhat oxidatív stressz hatására. Ezek magukba foglalják a Cap1 transzkripció faktort, a Hog1 stressz aktivált protein kinázt (PK), és a Rad53 DNS károsodást ellenőrző pont („checkpoint”) kinázt (Xu és munkatársai, 2013).

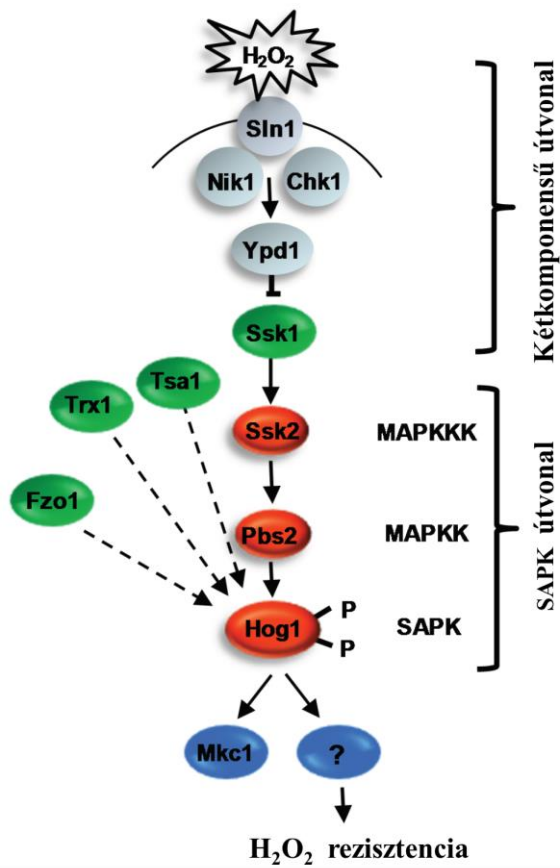
A *C. albicans* sejt HOG MAPK útvonalon az ozmotikus stressz érzékelés mellett az oxidatív stresszre szintén reagál, mindez transzkripció változásokat indukál, és a *C. albicans* sejt adaptálódik a megváltozott körülményekhez (Moye-Rowley, 2003; Hohmann, 2002).

Számos fehérjeje közül a Cap1 transzkripció faktor kimagasló szerepet tölt be a humán szervezetbe jutott *C. albicans* sejtek esetén a neutrofil granulociták által keltett oxidatív stressz leküzdésében (Fradin és mtsi, 2005). Nagyfokú homológiát mutat a *S. cerevisiae* Yap1 és az *S. pombe* Pap1 fehérjékkel, amelyek az AP-1 fehérjecsaládba tartoznak (Toone és mtsi, 2001; Alarco és mtsi, 1999). A Cap1 fehérje a *C. albicans* virulenciájában tölt be fontos szabályozó szerepet, mint például a neutrofil granulociták általi sejtölés gátlásában (Fradin és mtsi, 2005; Patterson és mtsi, 2013; Jain és mtsi, 2013).

Továbbá a *C. albicans* oxidatív stressz válaszában a HOG SAPK (stressz aktivált MAPK) útvonal is jelentős szerepet játszik, ugyanis H_2O_2 hatására a Hog1 fehérje a MAP kináz kaszkádon keresztül foszforilálódik, és a sejtmagban akkumulálódik (Enjalbert és mtsi, 2006). A Hog1 fehérje a nagy H_2O_2 koncentrációnak kitett *C. albicans* sejtekben aktiválódik, hasonlóan *S. pombe* Sty1 MAPK útvonallal. A *C. albicans*ban megfigyelt

jelenség valószínű oka, hogy ezen humán opportunistá patogén gomba a fertőzés során a nagy ROS tartalmú környezethez adaptálódott (Smith és mtsi, 2004). Továbbá, az *S. pombe*-ban létrejött H₂O₂ stresszben a Sty1 MAPK kináz elengedhetetlen a fő környezeti stresszválasz gének (CESR) indukálásában, amelyek többek között fontos antioxidáns enzimeket kódolnak, például katalázt vagy glutation peroxidázt (Chen és mtsi, 2003). Azonban a *C. albicans* Hog1 fehérjéje nem szükséges az antioxidáns gének aktiválásában H₂O₂ indukálta stresszben (Enjalbert és mtsi, 2006). Ehhez fűződően da Silva-Dantas és munkatársai kutatásaikban azt a magyarázatot vetették fel, hogy a *C. albicans* Hog1 fehérjéjének valószínűleg csupán poszt-transzkripció szinten van szerepe ebben a folyamatban (da Silva-Dantas, 2015). A Hog 1 fehérje a Pbs2 MAPKK fehérjétől függő módon aktiválódik oxidatív stressz hatására (Arana és mtsi, 2005). A Pbs2 MAPKK-t pedig a Ssk2 MAPKKK regulálja (**3. ábra**). Továbbá fontos megfigyelés volt, hogy a mitokondriális biogenezis faktor, a Fzo1 hiányának következtében a Hog1 fehérje H₂O₂-ra érzékenyebb volt, mint az Fzo1 fehérje jelenlétében (Thomas és mtsi, 2013). Mindemellett két redox szenzitív antioxidáns enzim is szabályozó hatással volt a Hog1 oxidatív stressz hatására történő aktivációjára, a tioredoxin peroxidáz enzim, a Tsa1, valamint a tioredoxin enzim, a Trx1 (da Silva Dantas és mtsi, 2010; Veal és mtsi, 2007) (**3. ábra**). A Tsa1 fehérjének különlegesen fontos szerepe van a Hog1 H₂O₂-indukálta foszforilációjában, ugyanis két cisztein oldalláncot tartalmaz, amelyek részt vesznek a H₂O₂ tioredoxinhoz kapcsolt katalitikus redukciójában. Továbbá a Trx1 fehérje fontos a Cap1 fehérje H₂O₂ stressz kiváltotta aktivációjában (da Silva Dantas és mtsi, 2010). Mindezek azt mutatják, hogy a Trx1/Tsa1 rendszer központi szabályozó szereppel rendelkezik a *C. albicans* oxidatív stresszválaszának koordinálásában (**3. ábra**) (da Silva Dantas és mtsi, 2010).

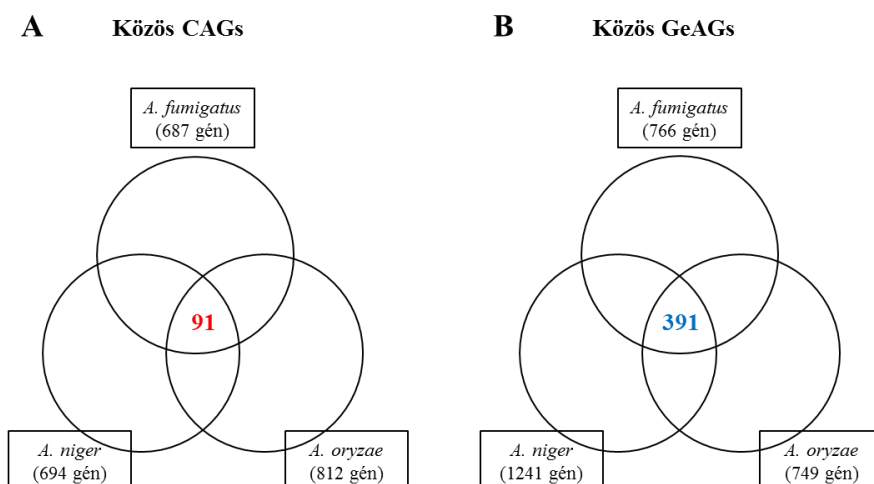
Hasonló szabályozó funkciót a *S. pombe* Sty1 MAPK útvonal kapcsán is kimutattak, ugyanis ez a MAPK szintén kölcsönhatásba lép más transzkripciós faktorokkal az oxidatív stressz szabályozásakor (Dantas és mtsi, 2015; Enjalbert és mtsi, 2006; Chen és mtsi, 2003). A Hog1 H_2O_2 hatására történő aktivációjának következtében az Mkc1 (MAP kináz protein) foszforilálódik. Viszont erről a fehérjéről korábban kimutatták, hogy H_2O_2 indukálta stresszben a sejt túlélésében betöltött szerepe elhanyagolható (Navarro-García és mtsi, 2005). Továbbá az Sko1 fehérje stressz hatására szintén Hog1-függő módon foszforilálódik. Ugyanakkor a Hog1 fehérjének nincs jelentős szerepe a *C. albicans* oxidatív stresszválaszának szabályozásában (Enjalbert és mtsi, 2006), ami miatt a Sko1 fehérjének is csak másodlagos szerepe lehet a H_2O_2 hatására bekövetkezett transzkripciós változásokban. Mindezért feltételezhető, hogy egyéb, még feltáráásra váró Hog1 targetek létezhetnek (**3. ábra**) (Dantas és mtsi, 2015).



3. ábra A *C. albicans* gombában H₂O₂ hatására indukálódott Hog1 SAPK útvonal. A Hog1 fehérje H₂O₂ stressz alatti aktivátorai zöld színnel jellettek, Ezek közé tartozik a stresszválasz regulátor fehérje (Ssk1), a redox szenzitív antioxidánsok (Tsa1 és Trx1), valamint a mitokondrium biogenezis faktor (Fzo1) (Dantas és mtsi, 2015).

2.6 Az *Aspergillus* fajok AtfA transzkripció faktorának szerepe

Hagiwara és munkatársai bő egy évvel ezelőtt három különböző *Aspergillus* faj összehasonlító genomikai elemzését végezték el. Az *A. fumigatus*, *A. niger*, és az *A. oryzae* gombafajok hifáiból, nyugalmi állapotú spóráiból és egy órán át inkubált konídiospóráiból származó transzkriptomokat hasonlították össze (Hagiwara és mtsi, 2016). Eredményeikben azt látták, hogy az AtfA transzkripció faktor mind a három gombafaj esetében pozitívan szabályozza a konídiospórákban lévő stresszgéneket, illetve negatívan hat a csírázási folyamathoz kapcsolódó génexpresszióra (**4. ábra**). Ennek alapján a kutatók azt feltételezik, hogy az AtfA fehérjének jelentős szerepe van az *Aspergillus* gombasporák nyugalmi állapotának fenntartásában. Ezen belül az *A. fumigatus* esetében az általánosan konidiogenezishez köthető gének AtfA-függő módon expresszáldtak, ami arra enged következtetni, hogy az AtfA döntő szerepet játszik a konídiospórák stressz toleranciájának a biztosításában (Hagiwara és mtsi, 2016).



4. ábra Az *Aspergillus* fajok közös konídium asszociált génjeit (conidia associated genes: **CAGs**) és csírázáshoz kapcsolt génjeit (germination-associated genes: **GeAGs**) összehasonlító kördiagram (Hagiwara és mtsi, 2016) **A)** A CA gének között 91 található meg mind a három fajban, amely a gének csupán 11.2 – 13.2 %-a (piros szín). **B)** A három fajban 391 közös gén található a CeA gének között, amely a gének 31.5 – 52.2 %-a (kék szín).

2.6.1. Az *Aspergillus fumigatus* AtfA transzkripciósfaktorának szerepe

Az *A. fumigatus* $\Delta atfA$ mutáns törzse érzékenyebben reagált oxidatív és hőstresszre, mint a vadtypus (Hagiwara és mtsi, 2014).

Korábban kimutatták, hogy a CatA, Cu/Zn szuperoxid dizmutáz (*sod1*) és a trehalóz szintáz (*tpsA*) gének nagymértékben expresszálódtak az *A. fumigatus* konídiumaiban (Paris és mtsi, 2005; Lombou és mtsi, 2010, Al-Bader és mtsi, 2010). Továbbá transzkriptomikai analízissel alátámasztották, hogy az AtfA transzkripciósfaktor különböző stresszválasz gének, mint például *catA*, *dprA*, *scf1* és a *conJ* gének expresszióját is szabályozza ezen gomba spórázási fázisaiban. A dehidrinszerű DprA fehérje az *A. fumigatus* konídiumaiban fellépő oxidatív stressz elleni védelemben meghatározó szerepet tölt be. A dehidrinszerű fehérjék nem rendelkeznek meghatározott

hajtogatódási és háromdimenziós szerkezettel, de különböző szerkezeti motívumok, mint például α -hélix szerkezet felvételére képesek (Koag és mtsi, 2003). A DprA, mint chaperon fehérje vesz részt az *A. fumigatus* oxidatív stressz elleni védekező mechanizmusában (Hoi és mtsi, 2011). A ConJ egy konídium-specifikus fehérje, amely spórázáskor és fény hatására indukálódik. Oxidatív stressz alatt mindkét fehérje AtfA-függő módon down-regulálódik (Hagiwara és mtsi, 2014). Az Scf1 molekula egy hősokk protein családba tartozó fehérje és jelentős homológiát mutat a *S. cerevisiae* HSP12 membránstabilizáló fehérjéjével. A HSP12 fehérje megvédi a sejtet a kiszáradástól, a hősokktól, az ozmotikus és oxidatív stressztől (Welker és mtsi, 2010). *A. fumigatus* gombában az AtfA pozitívan szabályozza e fehérje génjének expresszióját. Emellett az AtfA fehérje regulálja a konídiumokban a HOG MAPK útvonalat, amely fontos szerepet játszik ennek a gombafajnak a stresszvédelmi rendszereiben (Hagiwara és mtsi, 2014).

2.6.2 Az *Aspergillus oryzae* AtfA transzkripciós faktorának szerepe

Az *A. oryzae* gombában három különböző ATF-típusú fehérje található, amelyek közül az AtfA-t és az AtfB-t funkcionálisan is jellemezték (Sakamoto és mtsi, 2008, 2009). A $\Delta atfA$ mutáns törzs a $\Delta atfB$ mutáns törzshöz viszonyítva stresszre érzékenyebb fenotípussal rendelkezett, és csírázási rátája is sokkal kisebb volt. Az *atfA* és *atfB* dupla mutáns viszont a $\Delta atfA$ és a $\Delta atfB$ mutánsokhoz képest számos stresszre, köztük az oxidatív stresszre, UV sugárzásra és hőstresszre is még szenzitívebben reagált (Sakamoto és mtsi, 2009).

Az *A. oryzae* AtfA és AtfB fehérjék számos gén expresszióját közösen szabályozzák, viszont az AtfA transzkripciós faktor számos olyan fehérje génjének indukcióját is befolyásolja, amelyet az AtfB nem. Ezek

között olyan géneket találunk, amelyek az *A. oryzae* oxidatív stressz rezisztenciájáért felelősek. Mindemellett az AtfA a szén és nitrogén metabolizmuson keresztül bekapcsolódik a csírázás folyamatának szabályozásába is. Ugyanis nitrát minimál táptalajon a vad típusú és $\Delta atfA$ mutáns törzs csírázási rátája ugyanolyan volt, azonban glutamát egyedüli nitrogén-forráson a $\Delta atfA$ mutáns törzs csírázási rátája növekedett. Mindemellett a $\Delta atfA$ mutáns törzs konídiumai kevesebb glutamátot tartalmaztak, amely molekula a konídiumokban megtalálható legfőbb aminosav típus. Mindez azt mutatja, hogy az AtfA fehérje kontrollálja a konídiumokban történő aminosav felhalmozódást, amely nélkülözhetetlen a megfelelő csírázáshoz (Sakamoto és mtsi, 2009).

2.6.3 Az *Aspergillus nidulans* AtfA transzkripcióos fehérjéje

Az *A. nidulans*ban is megtalálhatók az *S. pombe* Atf1 és Pap1 fehérjékhez hasonló szerkezetű molekulák, melyek különböző stresszválaszok szabályozásában vesznek részt (Pócsi és mtsi, 2005; Balázs és munkatársai, 2010; Hagiwara és munkatársai, 2008; Asano és munkatársai 2007). Az *A. nidulans*ban zajló szabályozó folyamatok nagyfokú homológiát mutatnak a *S. cerevisiae* és a *S. pombe* élesztőkben lejátszódó folyamatokkal (Balázs és mtsi, 2010). Az *A. nidulans* AtfA transzkripcióos faktora homológiát mutat az *S. pombe* Atf1 szabályozó fehérjéjével. Az Atf1 fehérje általánosan az oxidatív és ozmotikus stresszválaszért felelős a hasadó élesztő fajban, valamint az Sty1 MAPK útvonal szabályozása alatt áll (Toledano és mtsi, 2003). Balázs és munkatársai 2010-ben leírták, hogy a $\Delta atf1$ *S. pombe* ozmotikus stressz toleranciája részben helyreállt mind felületi, mind süllyesztett kultúrákban, ha a hiányzó allélt az *A. nidulans atfA* génjével helyettesítették. Következésképp az AtfA valóban funkcionális ortológja a hasadó élesztő Atf1 fehérjének (Balázs és mtsi, 2010).

Továbbá kimutatták, hogy az *Aspergillus nidulans* Δ atfA mutáns csökkent toleranciát mutat az oxidatív stresszt kiváltó ágensekkel szemben. Ennek ellenére általánosan stressz érzékeny fenotípus nem jött létre, ugyanis ozmotikus és diamid okozta oxidatív stresszre a mutáns törzs nem volt érzékeny (Hagiwara és mtsi, 2008). E jelenség hátterében az állhat, hogy más szabályozó faktorok is részt vehetnek a különböző stresszválaszok szabályozásában (Balázs és mtsi, 2010). Ilyen fehérje lehet a NapA transzkripciós faktor, amely a már említett *S. pombe* Pap1 fehérjéjével ortológ molekula (Hagiwara és mtsi, 2008). Ez a fehérje számos oxidatív stressz alatti folyamatért felelős, köztük a hifa növekedését szabályozza (Asano és mtsi 2007).

Az *A. nidulans* gombában kimutatták, hogy az AtfA transzkripciós faktor interakcióba lép a konídiumokban a SakA MAPK és a HOG MAPK útvonalhoz tartozó fehérjékkel (Lara-Rojas és mtsi, 2011). Valamint leírták, hogy az AtfA a HogA/SakA jelátviteli útvonalon keresztül szabályozza az ozmotikus és oxidatív stresszválaszhoz szükséges gének expresszióját (Balázs és mtsi, 2010).

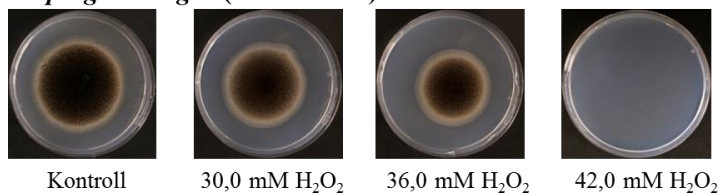
3. Eredmények

3.1 A vizsgált *Aspergillus* gombafajok eltérő oxidatív stressztűrése H₂O₂ és MSB kezelést követően

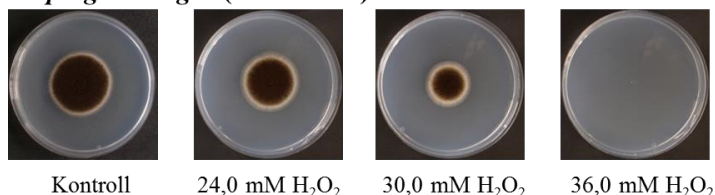
A 17 fajt reprezentáló 18 *Aspergillus* törzs esetén az oxidatív stressz vizsgálatokban a peroxid stresszt okozó H₂O₂-t, valamint a szuperoxid anionok felhalmozódását kiváltó MSB-t használtuk. A stresszkezelés után a gombatenyészeteket 37 °C-on 5 napig, 25 °C-on 5 és 10 napig inkubáltuk. Az *Aspergillus*ok stressz vizsgálatai nagyon különböző adatokat eredményeztek (2. és 3. táblázat).

A H₂O₂ és MSB stresszor tartalmú táptalajon tenyésztett és vizsgált 18 *Aspergillus* törzs (összesen 17 fajt reprezentáló törzsek) közül a két *A. niger* törzs esetében kiemelkedő peroxid toleranciát figyeltem meg (2. táblázat). Ugyanis 37 °C-on és 5 napon át tartó inkubációt követően az *A. niger* CBS 113.46 vad típusú törzs 36,0 mM H₂O₂ koncentráció jelenlétében is képes volt növekedni, míg a modellorganizmusként használt *A. niger* N402 törzs esetében a minimális gátló koncentráció (MIC) 30,0 mM volt (5. ábra). Szintén kiemelkedően oxidatív stressz toleráns volt az *A. nidulans* (MIC: 30,0 mM H₂O₂) és *A. oryzae* Rib40 gombatörzsek (MIC: 36,0 mM H₂O₂) (5. ábra és 2. táblázat).

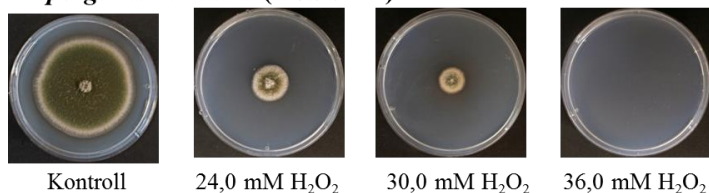
***Aspergillus niger* (CBS 113.46)**



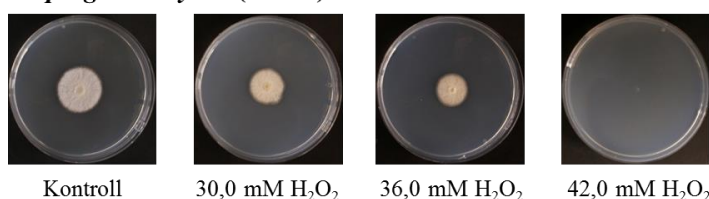
***Aspergillus niger* (NCCB 402)**



***Aspergillus nidulans* (FGSC A4)**



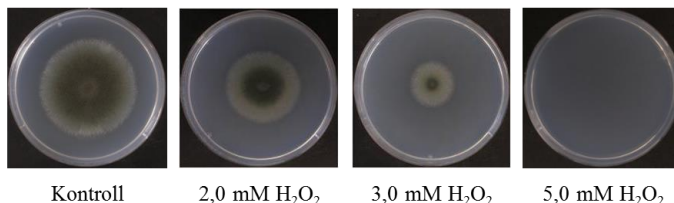
***Aspergillus oryzae* (Rib40)**



5. ábra Az *Aspergillus*ok kiemelkedő H₂O₂ stressz toleráns fajai 37 °C-on való 5 napig tartó inkubáció után: *A. niger* (CBS 113.46 és NCCB 402), *A. nidulans* (FGSC26), *A. oryzae* (Orosz és mtsi, 2018; <http://www.fung-stress.org/>).

Ugyanakkor az *A. fumigatus* volt a legérzékenyebb a H₂O₂ indukálta stresszben, és esetében a H₂O₂ MIC értéke 3,0 mM volt 37 °C-os 5 napos inkubációt alkalmazva (**6. ábra** és **2. táblázat**).

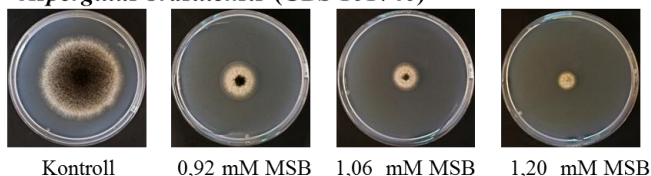
Aspergillus fumigatus (Af293)



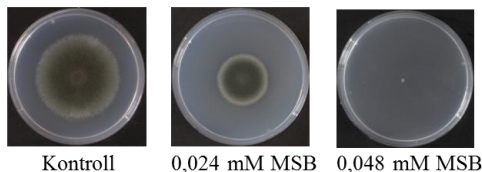
6. ábra Az *Aspergillus*ok között a H_2O_2 stresszre legérzékenyebb faj 37 °C-on való 5 napig tartó inkubációt követően: az *A. fumigatus* (Orosz és mtsi, 2018; <http://www.fung-stress.org/>).

Az MSB kiváltotta oxidatív stressz esetén az *A. brasiliensis* gombafaj volt a legtoleránsabb a 17 faj közül, ugyanis a MIC értéke 1,2 mM volt, míg a legérzékenyebb fajnak szintén az *A. fumigatus* bizonyult (MIC: 0,024 mM MSB) (7. ábra és 3. táblázat) (de Vries és mtsi, 2017; Orosz és mtsi, 2018; <http://www.fung-stress.org/>).

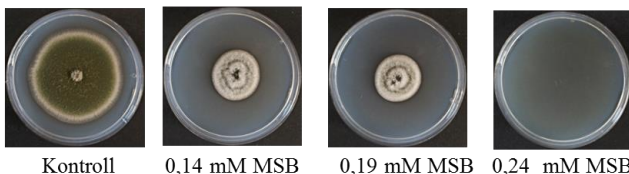
Aspergillus brasiliensis (CBS 101740)



Aspergillus fumigatus (Af293)



Aspergillus nidulans (FGSC A4)



7. ábra Az *Aspergillus*ok között a MSB stresszben legtoleránsabb fak az *A. brasiliensis* volt, míg a legérzékenyebb az *A. fumigatus* 37 °C-on való 5 napig tartó inkubációt követően (Orosz és mtsi, 2018; <http://www.fung-stress.org/>).

A 17 faj stressz tolerancia sorrendje szemmel láthatóan megváltozott, ha az inkubációs időt 25 °C inkubációs hőmérséklet mellett 5 napról 10 napra növeltük (2. és 3. táblázat). Mindez a stressz-adaptációs folyamatokat is mutatja, ilyen például *A. versicolor* telepek 25 °C-on 10 napig tartó MSB jelenlétében megfigyelt növekedése (3. táblázat).

Továbbá a spóráztatásra használt táptalajok összetétele és hőmérséklete is fontos szerepet töltenek be ezen gombák stressz tolerancia változásai szempontjából. Ugyanis azt figyeltük meg, hogy *A. fumigatus* és *A. nidulans* stressztűrése szignifikánsan javult maláta kivonatot tartalmazó mikológiai peptonon történő spóráztatás hatására, illetve a tenyésztési hőmérséklet 25 °C-ról 37 °C-ra történő emelésekor (de Vries és mtsi, 2017, Orosz és mtsi, 2018; <http://www.fung-stress.org/>) (3. táblázat).

2. táblázat A 17 fajt reprezentáló 18 *Aspergillus* törzs H₂O₂ stressz ágens okozta oxidatív stressz toleranciájának növekedési sorrendje.

H ₂ O ₂ stressz kísérletek eredményei		
(Stressz tolerancia sorrend*)		
37 °C, 5 d	25 °C, 5 d	25 °C, 10 d
1. <i>A. nidulans</i> (spóráztatás: NMM, 37 °C)	1. <i>A. nidulans</i> (spóráztatás: NMM, 37 °C)	1. <i>A. niger</i> CBS 113.46
2. <i>A. nidulans</i> (spóráztatás: malátás táptalaj, 37 °C)	<i>A. niger</i> CBS 113.46	<i>A. niger</i> NCCB 402
<i>A. niger</i> CBS 113.46	<i>A. niger</i> NCCB 412	<i>A. oryzae</i>
<i>A. oryzae</i>	4. <i>A. flavus</i>	4. <i>A. glaucus</i> (NMM + 2,0 M szorbiton tenyésztve)
5. <i>A. brasiliensis</i>	<i>A. glaucus</i> (NMM + 2,0 M szorbiton tenyésztve)	<i>A. nidulans</i> (spóráztatás: malátás táptalaj, 37 °C)
<i>A. nidulans</i> (spóráztatás: malátás táptalaj, 25 °C)	<i>A. oryzae</i>	<i>A. fischeri</i>
<i>A. niger</i> NCCB 402	<i>A. wentii</i>	7. <i>A. acidus</i> (foetidus)
8. <i>A. acidus</i> (foetidus)	<i>A. fischeri</i>	<i>A. flavus</i>
<i>A. tubingensis</i>	9. <i>A. acidus</i> (foetidus)	<i>A. nidulans</i> (spóráztatás: NMM, 37 °C)
<i>A. fischeri</i>	<i>A. versicolor</i>	<i>A. versicolor</i>
11. <i>A. flavus</i>	11. <i>A. tubingensis</i>	<i>A. wentii</i>
12. <i>A. terreus</i>	12. <i>A. brasiliensis</i>	12. <i>A. tubingensis</i>
13. <i>A. carbonarius</i>	<i>A. glaucus</i> (NMM + 1,0 M NaCl-on tenyésztve)	13. <i>A. brasiliensis</i>
14. <i>A. aculeatus</i>	<i>A. nidulans</i> (spóráztatás: malátás táptalaj, 37 °C)	<i>A. carbonarius</i>
<i>A. clavatus</i>	15. <i>A. terreus</i>	<i>A. glaucus</i> (NMM + 1,0 M NaCl-on tenyésztve)
16. <i>A. fumigatus</i> (spóráztatás: NMM, 37 °C)	16. <i>A. carbonarius</i>	<i>A. nidulans</i> (spóráztatás: malátás táptalaj, 25 °C)
17. <i>A. fumigatus</i> (spóráztatás: malátás táptalaj, 25 °C)	17. <i>A. aculeatus</i>	<i>A. terreus</i>
18. <i>A. fumigatus</i> (spóráztatás: malátás táptalaj, 37 °C)	<i>A. glaucus</i> (NMM + 0,5 M NaCl-on tenyésztve)	18. <i>A. aculeatus</i>

Folytatás a következő oldalon.

Folytatás az előző oldalról.

	<i>A. nidulans</i> (spóráztatás: malátás táptalaj, 25 °C)	<i>A. clavatus</i>
	<i>A. sydowii</i>	<i>A. glaucus</i> (NMM + 0,5 M NaCl-on tenyésztve)
21.	<i>A. clavatus</i>	<i>A. sydowii</i>
22.	<i>A. fumigatus</i> (spóráztatás: NMM 37 °C)	<i>A. wentii</i> (NMM + 2,0 M szorbiton tenyésztve)
	<i>A. wentii</i> (NMM + 2,0 M szorbiton tenyésztve)	23. <i>A. fumigatus</i> (spóráztatás: NMM, 37 °C)
24.	<i>A. fumigatus</i> (spóráztatás: malátás táptalaj, 25 °C)	24. <i>A. fumigatus</i> (spóráztatás: malátás táptalaj, 25 °C)
25.	<i>A. fumigatus</i> (spóráztatás: malátás táptalaj, 37 °C)	<i>A. fumigatus</i> (spóráztatás: malátás táptalaj, 37 °C)

* Az 18 *Aspergillus* törzs stressz tolerancia sorrendjét a stressz indukáló ágensek azon koncentrációinak figyelembevételével határoztuk meg, amely a tenyészetek 100 %-os, vagy közel 100 %-os növekedés gátlását okozták.

3. táblázat A 17 fajt reprezentáló 18 *Aspergillus* törzs MSB stressz ágens által keltett oxidatív stressz toleranciájának növekedési sorrendje.

MSB stressz kísérletek eredményei					
(Stressz tolerancia sorrend*)					
37 °C, 5 d		25 °C, 5 d		25 °C, 10 d	
1.	<i>A. brasiliensis</i> **	1.	<i>A. brasiliensis</i>	1.	<i>A. brasiliensis</i>
2.	<i>A. nidulans</i> (spóráztatás: malátás táptalaj, 37 °C)	2.	<i>A. aculeatus</i>	2.	<i>A. aculeatus</i>
	<i>A. oryzae</i>		<i>A. wentii</i> (NMM + 2,0 M szorbiton tenyésztve)		<i>A. versicolor</i>
4.	<i>A. aculeatus</i>	4.	<i>A. carbonarius</i>		<i>A. wentii</i> (NMM + 2,0 M szorbiton tenyésztve)
	<i>A. flavus</i>	5.	<i>A. wentii</i>	5.	<i>A. carbonarius</i>
	<i>A. fumigatus</i> (spóráztatás: malátás táptalaj, 37 °C)	6.	<i>A. niger</i> NCCB 402	6.	<i>A. terreus</i>
7.	<i>A. nidulans</i> (spóráztatás: NMM, 37 °C)	7.	<i>A. fumigatus</i> (spóráztatás: malátás táptalaj, 37 °C)		<i>A. wentii</i>
	<i>A. fischeri</i>		<i>A. glaucus</i> (NMM + 2,0 M szorbiton tenyésztve)	8.	<i>A. niger</i> NCCB 402***
9.	<i>A. terreus</i>		<i>A. nidulans</i> (spóráztatás: malátás táptalaj, 37 °C)		<i>A. nidulans</i> (spóráztatás: malátás táptalaj, 37 °C)***
10.	<i>A. carbonarius</i>		<i>A. flavus</i>	10.	<i>A. niger</i> CBS 113.46***
	<i>A. nidulans</i> (spóráztatás: malátás táptalaj, 25 °C)	11.	<i>A. versicolor</i>	11.	<i>A. flavus</i>
	<i>A. niger</i> CBS 113.46	12.	<i>A. acidus</i> (foetidus)	12.	<i>A. fumigatus</i> (spóráztatás: malátás táptalaj, 37 °C)
	<i>A. niger</i> NCCB 402		<i>A. clavatus</i>	13.	<i>A. glaucus</i> (NMM + 2,0 M szorbiton tenyésztve)
14.	<i>A. acidus</i> (foetidus)		<i>A. nidulans</i> (spóráztatás: NMM, 37 °C)	14.	<i>A. tubingensis</i>
	<i>A. tubingensis</i>		<i>A. oryzae</i>		<i>A. acidus</i> (foetidus)
16.	<i>A. clavatus</i>		<i>A. terreus</i>		<i>A. clavatus</i>
17.	<i>A. fumigatus</i> (spóráztatás: NMM, 37 °C)		<i>A. tubingensis</i>		<i>A. nidulans</i> (spóráztatás: malátás táptalaj, 25 °C)
18.	<i>A. fumigatus</i> (spóráztatás: malátás táptalaj, 25 °C)		<i>A. fischeri</i>		<i>A. oryzae</i>

Folytatás a következő oldalon.

Folytatás az előző oldalról.

19.	<i>A. nidulans</i> (spóráztatás: malátás táptalaj, 25 °C)	<i>A. sydowii</i>
	<i>A. niger</i> CBS 113.46	<i>A. fischeri</i>
	<i>A. sydowii</i>	21. <i>A. nidulans</i> (spóráztatás: NMM, 37 °C)
22.	<i>A. fumigatus</i> (spóráztatás: malátás táptalaj, 25 °C)	22. <i>A. glaucus</i> (NMM + 0,5 M NaCl-on tenyésztve)
23.	<i>A. glaucus</i> (NMM + 0,5 M NaCl-on tenyésztve)	23. <i>A. fumigatus</i> (spóráztatás: malátás táptalaj, 25 °C)
24.	<i>A. glaucus</i> (NMM + 1,0 M NaCl-on tenyésztve)	<i>A. glaucus</i> (NMM + 1,0 M NaCl-on tenyésztve)
25.	<i>A. fumigatus</i> (spóráztatás: NMM, 37 °C)	25. <i>A. fumigatus</i> (spóráztatás: NMM, 37 °C)

* Az 18 *Aspergillus* törzs stressz tolerancia sorrendjét a stressz indukáló ágensek azon koncentrációinak figyelembevételével határoztuk meg, amely a tenyészetek 100 %-os, vagy közel 100 %-os növekedés gátlását okozták.

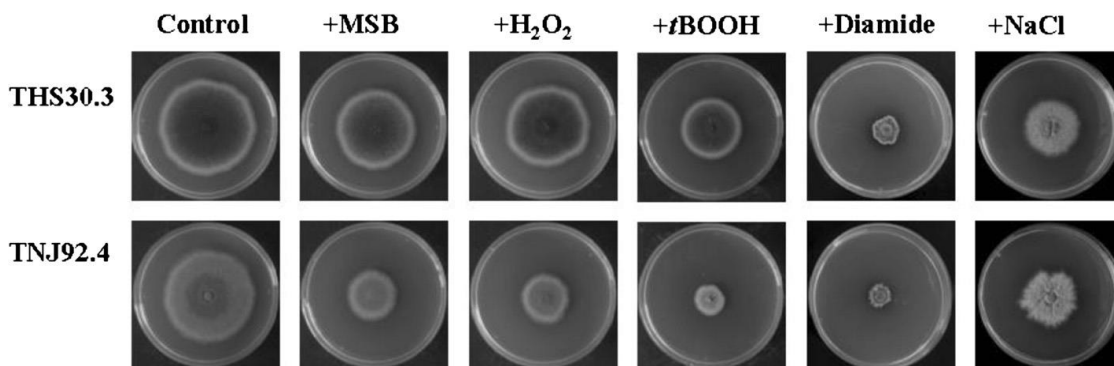
** 75 %-os növekedés gátlás 1,2 mM MSB mellett.

*** 57-61 % -os növekedés gátlás 0,38 mM MSB mellett.

3.2 Az *atfA* deléciójának élettani hatásai az *Aspergillus nidulans* gombafajban

3.2.1 Az *Aspergillus nidulans atfA* deléciójával megváltozott stresszérzékenysége

Az *A. nidulans* kontroll és $\Delta atfA$ mutáns törzs felületi kultúrák stresszérzékenységét külön is megvizsgáltuk. Oxidatív stressz generálására 0,12 mM MSB-t, 6,0 mM H_2O_2 -t, 0,8 mM *t*BOOH-t és 2,0 mM dimaidot, míg ozmotikus stressz indukálására 0,6 M NaCl-t alkalmaztunk. A tenyészeteket 37 °C-on 5 napon át inkubáltuk. Eredményül azt kaptuk, hogy a $\Delta atfA$ mutáns sokkal érzékenyebb volt MSB, H_2O_2 , *t*BOOH jelenlétére, mint a kontroll törzs. Ugyanakkor diamid és NaCl stresszkezelések hatására a két törzs növekedésében nem tapasztaltunk szignifikáns eltérést. (8. ábra; 4. táblázat).



8. ábra A kontroll (THS30.3) és a $\Delta atfA$ (TNJ92.4) mutáns gombatörzsek stressz érzékenységének összehasonlítása. A Petri csészék táptalajára pont inokuláltuk a friss spórákat (10^5), és 37 °C hőmérsékleten 5 napon át inkubáltuk a tenyészeteket. Az alkalmazott stresszor koncentrációk az alábbiak voltak: *t*BOOH: 0,8 mM, H_2O_2 : 6,0 mM, MSB:0,12 mM, diamid: 2,0 mM, és NaCl: 0,6 M.

4. táblázat A kontroll és a *ΔatfA* mutáns gombatörzsek felületi tenyészeinek stresszérzékenysége (Emri és mtsi, 2015).

Növekedés ^a	Stresszkezelések				
	MSB (0,12 mM)	H ₂ O ₂ (6,0 mM)	<i>t</i> BOOH (0,8 mM)	diamid (2,0 mM)	NaCl (0,6 M)
Tenyészetek átmérője (%) (kontroll törzs)	82±3	84±6	70±8	34±3	56±4
Tenyészetek átmérője (%) (<i>ΔatfA</i> törzs)	52±3*	54±6*	41±6*	26±4*	57±4

*A két törzs közötti szignifikáns különbséget a Student-féle t-tesztel ellenőriztük ($p < 0,05$).

^aA tenyészetek növekedést az 5. napon átmérőjük lemerésével jellemeztük. A tenyészetek átmérőjét a kezeletlen kultúráknál mért átmérők százalékában adtuk meg. A táblázatban 4 független mérés átlaga és szórása szerepel.

3.2.2 Az *Aspergillus nidulans* kontroll és *ΔatfA* törzsek tenyészeinek glutation-peroxidáz, glutaton-reduktáz, kataláz, glükóz-6-foszfát-dehidrogenáz és nitrát-reduktáz enzimaktivitása és szterin tartalma

Az *A. nidulans* kontroll és mutáns törzsének rázatott lombikos tenyészeit 16 órás növesztést követően 0,12 mM MSB-vel, 0,8 mM *t*BOOH-val és 2,0 mM diamiddal kezeltük. Az ezt követő 4. órában a tenyészetekből mintát vettünk a szterin tartalom meghatározásához. Azt tapasztaltuk, hogy az MSB, *t*BOOH, diamid kezelések hatására a NR (nitrát-reduktáz) aktivitások szignifikánsan csökkentek mindkét törzsben, kivéve az MSB-vel kezelt *ΔatfA* törzset, ahol aktivitás növekedést tapasztaltunk (5. táblázat).

A GR (glutacion reduktáz), GPx (glutacion peroxidáz) és kataláz aktivitások mindkét törzs esetében megnövekedtek az oxidatív stresszkezelések hatására (5. táblázat).

Az MSB, *t*BOOH, diamid kezelések érdemben nem befolyásolták a specifikus G6PDH (glükóz-6-foszfát dehidrogenáz) aktivitásokat egyik törzsben sem az adott vizsgálati körülmények között (5. táblázat).

A három stresszor közül a *t*BOOH jelentősen csökkentette a sejtek szterin tartalmát (5. táblázat).

5. táblázat A kezelt és kezeletlen tenyészetek specifikus enzimaktivitásai és szterin tartalma (Orosz és mtsi, 2017).

Tenyészetek	NR (mkat/kg fehérje)	G6PDH (mkat/kg fehérje)	GR (mkat/kg fehérje)	GPx (mkat/kg fehérje)	Kataláz (kat/kg fehérje)	Szterin tartalom (μg/mg)
Kontroll törzs kezeletlen	2,6 ± 0,3	8,0 ± 1	3,8 ± 0,5	0,40 ± 0,04	0,20 ± 0,02	5,8 ± 0,6
Kontroll törzs MSB	1,6 ± 0,3*	8,5 ± 1	4,8 ± 0,6*	0,51 ± 0,05*	0,38 ± 0,03*	5,7 ± 0,2
Kontroll törzs <i>t</i> BOOH	0,3 ± 0,1*	8,3 ± 0,9	4,4 ± 0,6*	0,57 ± 0,05*	0,40 ± 0,03*	3,3 ± 0,2*
Kontroll törzs diamid	0,6 ± 0,1*	7,8 ± 1	4,5 ± 0,5*	0,77 ± 0,08*	0,30 ± 0,03*	7,0 ± 0,7
$\Delta atfA$ törzs kezeletlen	2,8 ± 0,3	7,4 ± 0,9	3,4 ± 0,4	0,33 ± 0,04	0,18 ± 0,02	6,8 ± 0,7
$\Delta atfA$ törzs MSB	3,1 ± 0,4*	8,0 ± 1	4,6 ± 0,5*	0,46 ± 0,05*	0,43 ± 0,04*	5,7 ± 0,4
$\Delta atfA$ törzs <i>t</i> BOOH	0,3 ± 0,1*	7,7 ± 0,8	4,8 ± 0,5*	0,58 ± 0,06*	0,44 ± 0,04*	2,7 ± 0,2*
$\Delta atfA$ törzs diamid	0,7 ± 0,1*	8,1 ± 1,2	4,6 ± 0,4*	0,44 ± 0,05*	0,43 ± 0,04*	7,3 ± 0,3

A táblázatban átlagolt $\pm$ S.D. értékek találhatók.

*A kezeletlen tenyészetek esetében a Student-féle t-teszttel kapott értékektől szignifikánsan különböző értékek ($p < 0,05$; $n = 3$).

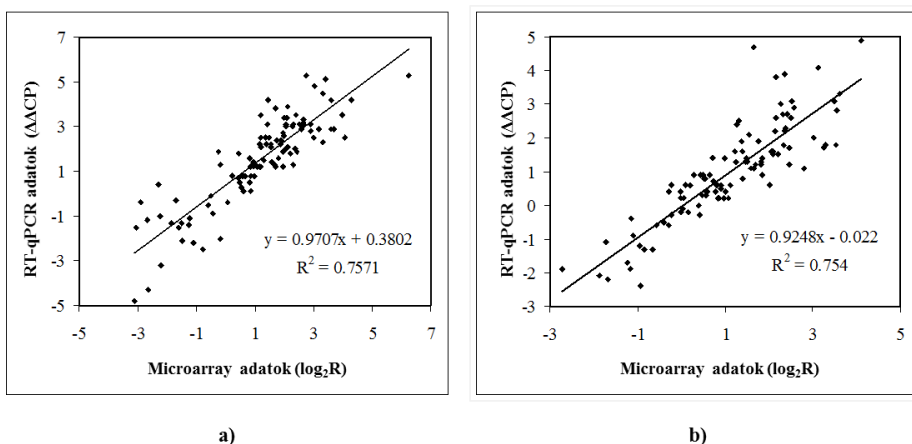
3.3 Az *Aspergillus nidulans* AtfA transzkripció faktorának hiányában bekövetkezett genomszintű transzkripció változások

3.3.1 Az *Aspergillus nidulans* törzsek kezelt és kezeletlen tenyészetével végzett microarray vizsgálat és az RT-qPCR meghatározás eredményei

A kontroll és a *ΔatfA* törzsek 16 órán át rázatott lombikos tenyészetét 0,12 mM MSB, 0,8 mM tBOOH és 1,8 mM diamid stresszorokkal kezeltük. A stresszkezelést követő 30. percben a törzsek kezelt és kezeletlen tenyészetéből mintát vettünk. A minták liofilizált micéliumaiból RNS-t izoláltunk, amelyeket a DNS-chip és RT-qPCR vizsgálatokhoz használtunk fel.

Eredményeink azt mutatják, hogy a különféle oxidatív stresszhatások által együttesen szabályozott 1265 gén („Core Oxidative Stress Response”, vagy COSR gének) közül több, mint 1000 gén expressziós mintázata változott meg mind a *ΔatfA* mutáns törzsben, mind a kontroll törzsben MSB, tBOOH és diamid okozta stresszben (**10. ábra**).

A transzkripció változások mértékét a **10. táblázat**ban szereplő 35 gén esetében RT-qPCR segítségével is meghatároztuk. A microarray és az RT-qPCR vizsgálatok eredményei jól korreláltak egymással (**9. ábra**).

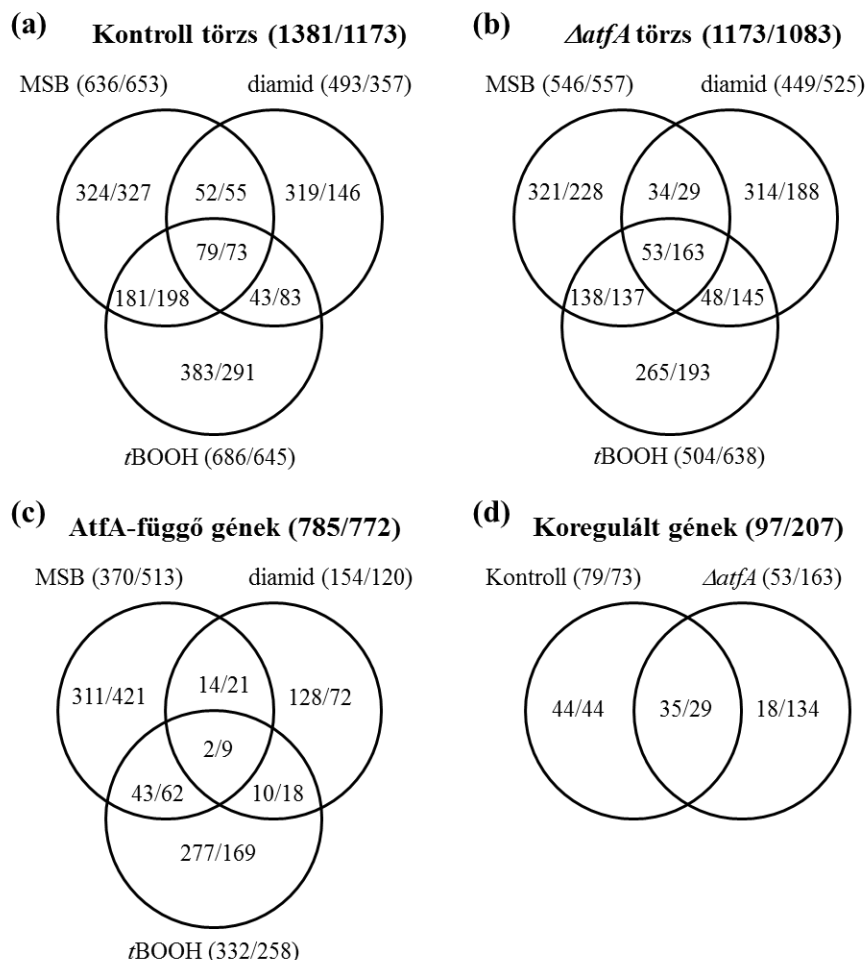


9. ábra A microarray és az RT-qPCR adatok között megfigyelt korreláció az *A. nidulans* kontroll **(a)** és *ΔatfA* mutáns **(b)** törzsben. Az MSB, *tBOOH* és diamid stresszkezelések következtében mind a 35 génhez törzsenként három különböző adat tartozik. Ezáltal az (a) és (b) grafikonok 105 adatot ábrázolnak (Orosz és mtsi, 2017).

Továbbá a COSR gének közül a kontroll törzsben 79 gén up-regulálódott, míg 73 gén down-regulálódott, azaz összesen 152 gén expressziója változott meg **(10a. ábra)**. Ugyanakkor ez a szám a *ΔatfA* mutáns törzsben 53 up-regulálódott és 163 down-regulálódott gén volt, azaz mindösszesen 216 génre volt hatással az AtfA fehérje hiány. Mindezek a változások a COSR gének mindössze 6-10 %-át érintik **(10b. ábra)** (Orosz és mtsi, 2017).

Összességében 1557 gén expressziója mutatott AtfA-függést a *ΔatfA* mutáns törzsben legalább egyféle stresszkezelés hatására, amelyek közül 785 up-regulálódott és 772 down-regulálódott gén volt. **(10c. ábra)**. A legtöbb AtfA-függő gént az MSB stressz-függő gének között találtam. Ugyanis az AtfA-függő gének közül 370 up-regulálódott és 513 down-regulálódott (883), azaz a gének több mint 50 %-ának (57%) megváltozott az expressziója MSB stressz alatt **(10c. ábra)**. Az 1557 gén közül viszont mindössze 11 (0,7%) gén működött ugyanúgy mind a három stressz körülményben (*tBOOH*, MSB,

diamid) AtfA-függő módon. A gének többségénél azt láttuk, hogy expressziójuk csak egy bizonyos stressz ágens által keltett stressz alatt mutatott AtfA-függést (**10c. ábra**).



10. ábra Az oxidatív stresszválasz gének Venn-diagramja. **(a)** A kontroll törzs stresszválasz (up-regulálódott és down-regulálódott) génjeinek eloszlása a háromféle oxidatív stressz alatt. **(b)** A $\Delta atfA$ törzs stresszválasz (up-regulálódott és down-regulálódott) génjeinek eloszlása a háromféle oxidatív stressz alatt. **(c)** A $\Delta atfA$ törzs stresszválasz (up-regulálódott és down-regulálódott) génjeinek eloszlása a háromféle oxidatív stressz alatt. **(d)** Az AtfA-függő gének eloszlása a mutáns törzsből hiányzó stressz függésükkel együtt (a kontroll törzs up-regulálódott és down-regulálódott génjeit mutatva.) **(d)** A két törzs közötti koregulált gének csoportjai (Orosz és mtsi, 2017).

Összességében az *atfA* gén törlésével az alábbi fő stresszválasz szabályozásban létrejött változásokat tapasztaltuk (**6. táblázat, 1. függelék**):

- Számos gén (1045) expressziója elvesztette stresszérzékenységét az *atfA* gén deléciójával, míg más gének (704) stresszérzékennyé váltak (**1. függelék**).
- Az AtfA hiányában meglévő együttesen szabályozott (koregulált) gének száma és a géncsoport összetétele is megváltozott a kontroll törzsben megtalálható COSR géncsoporthoz képest. Ugyanis az *atfA* gén deléciója következtében 88 gén elvesztette korábbi „koregulált természetét”, míg további 152 koregulált génné vált.
- Összesen 312 *tBOOH* specifikus gén *ΔatfA* mutáns törzsben MSB stresszfüggést mutatott. Továbbá 883 AtfA-függő gén elvesztette MSB stresszérzékenységét (**10. ábra**).
- Mindemellett, 52 diamid stressz-specifikus gén *tBOOH* stresszfüggést, míg 120 *tBOOH*-függő gén diamid-függést kezdtek mutatni az AtfA fehérje hiányában (**6. táblázat**).

6. táblázat Az *atfA* deléciójának következtében megváltozott stresszérzékenységű gének.

Koregulált természetét veszített és koregulálttá vált gének száma	240
Megváltozott stresszérzékenységű gének	1749
MSB stresszérzékennyé vált <i>tBOOH</i> specifikus gének	312
diamid stresszérzékennyé vált <i>tBOOH</i> specifikus gének	120
<i>tBOOH</i> stresszérzékennyé vált MSB specifikus gének	94
diamid stresszérzékennyé vált MSB specifikus gének	88
MSB stresszérzékennyé vált diamid specifikus gének	81
diamid stresszérzékennyé vált <i>tBOOH</i> specifikus gének	52
MSB stresszérzékenységüket elvesztett gének	883
<i>tBOOH</i> stresszérzékenységüket elvesztett gének	590
diamid stresszérzékenységüket elvesztett gének	274

3.3.1 Az AtfA-függést mutató stresszválasz gének

A géndúsulási vizsgálatok („gene enrichment analysis”) alapján az AtfA-függő gének között az **7. táblázatban** feltüntetett GO kategóriák dúsulását sikerült kimutatnunk.

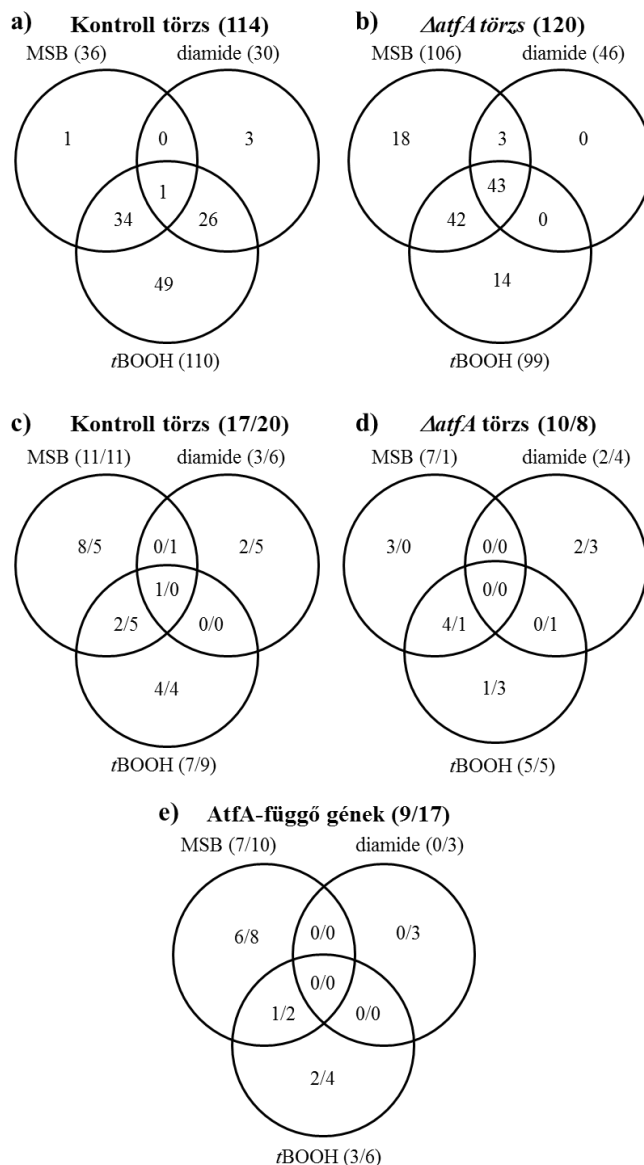
7. táblázat A géndúsulási vizsgálat eredményeként kapott AtfA-függő gének csoportjai stressz-függésük szerint (Orosz és mtsi, 2017).

Vizsgált géncsoportok	Gén ontológiai csoport (GO terms) és funkcionális kategória(FunCat terms)	Stressz-függés
<i>AtfA-függő módon up-regulálódott gének</i>		
	α -aminosav bioszintézis (GO)	<i>t</i> BOOH
	izoleucin, metionin, valin, arginin degradáció (FunCat)	<i>t</i> BOOH
	peroxisómális transzport (FunCat)	<i>t</i> BOOH
	zsírsav-anyagcsere (GO)	<i>t</i> BOOH
<i>AtfA-függő módon down-regulálódott gének</i>		
	mitotikus sejtciklus (GO)	MSB, <i>t</i> BOOH, diamid
	mitotikus testvér kromatid szegregáció (GO)	MSB, <i>t</i> BOOH, diamid
	citokinézis (GO)	MSB, <i>t</i> BOOH
	riboszóma biogenezis (GO)	<i>t</i> BOOH
	transzláció (GO)	MSB, <i>t</i> BOOH
	citromsav ciklus (FunCat)	MSB
	aerob légzés (FunCat)	<i>t</i> BOOH
	Fém ion homeosztázis (Na, K, Ca etc.) (FunCat)	diamid
	Az ER-ből a Golgi-ba irányuló vezikuláris transzport (GO)	MSB

Tíz kiválasztott géncsoport viselkedését részletesebben is megvizsgáltuk:

1. A „Riboszóma biogenezis gének” szignifikáns dúsulását láttuk a három stressz ágens által indukált stressz alatt mind a kontroll, mind a *ΔatfA* törzsben. MSB és diamid stresszben egymástól eltérő gének down-regulálódtak, ezért a koregulált gének száma nagyon kicsi (1) volt (**11.c ábra**). Számos gén, amely *t*BOOH vagy diamid

stresszfüggő volt, AtfA hiányában MSB stresszfüggést mutatott, és a koregulált gének száma 1-ről 43-ra nőtt (**11.a és b ábra**).



11. ábra „Riboszóma biogenezis” és „szignáltranszdukciós” gének stresszenkénti eloszlása. **(a és b)** A down-regulálódott „riboszóma biogenezis” gének eloszlása a háromféle stressz alatt mind a kontroll, mind a $\Delta atfA$ törzsben. **(c és d)** Az up-regulálódott/down-regulálódott „szignáltranszdukciós” gének stresszenkénti eloszlása a kontroll és $\Delta atfA$ törzsben. **(e)** A kontroll törzsben megfigyelt a háromféle stressz alatt up-regulálódott és down-regulálódott AtfA-függő „szignáltranszdukciós” gének a $\Delta atfA$ törzsben elveszítették stresszfüggésüket (Orosz és mtsi, 2017).

2. A "Mitotikus sejtciklus" gének nagyszámban down-regulálódtak a kontroll törzsben mind az MSB, a *tBOOH* és a diamid stresszben. Az *atfA* deléciója viszont jelentősen csökkentette a háromféle stressz alatt down-regulálódott gének számát (**2. függelék**).
3. Az antioxidáns enzimeket kódoló gének up-regulációját figyeltük meg a kontroll és a *ΔatfA* törzsben mind a három stressz esetén. Az *atfA* deléció csekély hatással volt ezen géncsoport tagjainak transzkripciójára (**2. függelék**). RT-qPCR meghatározással mindkét törzsben megerősítettük ezen gének up-regulációját (**8. táblázat**). A kontroll és mutáns törzsekben lévő kataláz, GR, GPx enzimek aktiválódását mértük mindkét törzsben (**5. táblázat**).
4. A sziderofór bioszintézis gének jelentős mértékben up-regulálódtak a *tBOOH* stressz alatt mind a kontroll, mind a *ΔatfA* törzsben. E géncsoportra nem volt hatással sem az *atfA* deléciója, sem az MSB-vel vagy diamiddal való stresszkezelés. *tBOOH* stresszben a *hapX* (egy bZIP-típusú transzkripciós faktor) és *sidA* (sziderofór bioszintézisben résztvevő L-ornitin-n5-monooxygenáz) up-regulálódtak mindkét törzsben, valamint a kontroll törzsben MSB stressz alatt. Ezeket az eredményeinket RT-qPCR adatainkkal is igazolni tudtuk (**8. táblázat, 2. függelék**).
5. A kontroll törzsben MSB stressz alatt 9 „vas-kén klaszter összeszerelő” gén up-regulálódott. Az *atfA* deléciójának következtében számuk csökkent (4). E gének MSB stressz alatti *AtfA*-függését RT-qPCR módszerrel is ellenőriztük. A vizsgálathoz 11 gént választottunk ki, amelyek mindegyike up-regulálódott a kontroll törzsben MSB stressz esetén, azonban a *ΔatfA* törzsben csak 5 gén expresszáldott (**8. táblázat**). Emellett a *tBOOH* stresszben 11,

míg diamid stressz esetén 9 gén up-regulációját figyeltük meg a kontroll törzsben. Az AtfA fehérje hiányában az up-regulálódott „vas-kén összeszerelő gének” száma 8-8 volt a két különböző stresszben **(8. táblázat, 2. függelék)**.

6. A kontroll törzsben 4 „Két-komponensű szignáltranszdukciós rendszer” gén up-regulálódott MSB stresszben, viszont *atfA* deléciójával valamennyi gén down-regulálódott **(2. függelék)**. RT-qPCR mérésekkel szintén kimutattuk e gének MSB stressz alatti transzkripció változásait, és 7 kiválasztott gén expresszióját vizsgáltuk. Eredményül azt kaptuk, hogy a kontroll törzsben mind a 7 gén, míg a *ΔatfA* törzsben mindössze 1 gén fejeződött ki MSB stressz hatására **(8. táblázat)**.
7. A 14 „nitrát felhasználási” gén közül 4 gén down-regulációját detektáltuk a kontroll törzsben létrejött MSB stressz alatt, azonban AtfA hiányával a down-regulálódott gének száma nulla volt **(2. függelék)**. A *niaD* (nitrát-reduktáz), a *niiA* (nitrit-reduktáz), és a *crnA* (nitrát/nitrit transzporter) csökkent transzkripciója a kontroll törzsben AtfA-függést mutatott. Ezen eredményeinket RT-qPCR mérésből származó adataink is megerősítették **(8. táblázat)**.
8. A down-regulálódott „ER-től Golgi készülékhez történő vezikulum transzport” gének dúsulását figyeltük meg a kontroll törzsben létrejött MSB stressz alatt. Az *atfA* deléciójával ezen gének száma (12) nagymértékben csökkent (2) MSB által keltett stresszben **(2. függelék)**.
9. A „szkvalén-ergoszterin bioszintézis” gének esetében lényeges transzkripció változást nem tapasztunk. Közülük csupán néhány

down-regulálódott a kontroll és a *ΔatfA* törzsben a különböző stresszkezelések hatására (**2. függelék**).

10. Számos „szignáltranszdukciós” gén volt érzékeny oxidatív stresszre mind a két törzs esetén (37 és 18). Azonban expressziójuk szabályozását a legtöbb esetben csakis egyféle stressz típusban láttuk (**11. c és d ábra**). Továbbá a „kétkomponensű szignáltranszdukciós rendszer” gének közül a *tcsA* (a konídium képzés szabályozásában résztvevő hisztidin kináz), *hk2* (feltételezetten hisztidint tartalmazó foszfortranszfer), *hk-8-2* (hisztidin-kináz, hisztidint tartalmazó foszfortranszfer), és *hk-8-3* (feltételezetten hisztidint tartalmazó foszfortranszfer) up-regulálódtak MSB stressznek kitett kontroll törzsben. Emellett diamid stresszben a *pdeA* (alacsony affinitású foszfodiészterázt kódoló gén; Lafon és mtsi, 2006) és az *lreB* (a kék-fényt érzékelő differenciációban és a szekunder metabolit termelésben résztvevő fehérjét kódoló gén; Purschwitz és mtsi 2008) az AtfA fehérje meglétében és hiányában is up-regulálódtak. Ugyanakkor a *hsp90* (hősokk fehérjét kódoló gén) és AN4419 (feltételezetten tirozin foszfát fehérjét kódoló) gén up-regulációját figyeltük meg *tBOOH* által keltett stresszben (**2. függelék**).

Az *atfA* deléciójával MSB stressz alatt jelentősen csökkent a down-regulálódott „szignáltranszdukciós” gének száma (11-ről 1-re) (**2. függelék**). Az összesen 26 AtfA-függést mutató „szignáltranszdukciós” gén közül 17 a *ΔatfA* törzsben elvesztette MSB stresszérzékenységét (**11. c ábra**).

8. táblázat $\Delta\Delta$ CP értékkel számított relatív transzkripció szintek.

Gén ID		Gén név	Ismert/ feltételezett funkció	Stressz körülmények					
				Kontroll törzs			ΔatfA mutáns		
				MSB	tBOOH	Diamid	MSB	tBOOH	Diamid
“Antioxidáns enzim” gének									
AN9339		catB	kataláz	1,4 ± 0,9*	2,4 ± 1,2*	1,2 ± 0,8*	2,9 ± 1,0*	3,1 ± 1,2*	1,6 ± 0,8*
AN10220		ccp1	citokróim c peroxidáz	5,3 ± 1,1*	3,0 ± 1,2*	5,1 ± 1,4*	1,8 ± 0,7*	4,7 ± 1,1*	1,7 ± 0,9*
AN0932		glrA	glutation- reduktáz	4,8 ± 1,4*	1,3 ± 0,8*	3,4 ± 0,8*	1,7 ± 1,1*	1,6 ± 1,1*	1,2 ± 0,7*
AN2846		gpxA	glutation- peroxidáz	2,5 ± 1,3*	4,2 ± 2,0*	3,5 ± 1,1*	1,8 ± 1,0*	1,8 ± 0,9*	2,8 ± 1,0*
AN7567			glutaredoxin	1,3 ± 0,9*	2,5 ± 1,5*	3,5 ± 0,7*	1,1 ± 0,7*	1,6 ± 1,1*	1,9 ± 0,9*
AN5831			glutation- transzferáz	5,3 ± 1,4*	3,1 ± 2,0*	2,3 ± 1,6*	3,3 ± 1,5*	2,0 ± 1,0*	1,6 ± 0,9*
AN3581		trxR	tioeredoxinred uktáz	4,5 ± 1,0*	2,9 ± 1,4*	2,8 ± 1,4*	4,1 ± 1,2*	3,1 ± 1,0*	4,9 ± 1,2*
AN8692		prxA	tioeredoxin- függő peroxidáz	3,4 ± 1,0*	3,8 ± 0,8*	3,9 ± 1,4*	3,8 ± 1,4*	2,7 ± 0,8*	3,9 ± 0,9*
“Sziderofór bioszintézis” gének									
AN5823		sida	L-ornitin N5- monooxygen áz	2,4 ± 0,9*	1,2 ± 0,6*	-2,5 ± 1,1*	0,6 ± 0,8	1,2 ± 0,7*	-0,2 ± 0,5
AN8251		hapX	bZIP transzkripció s faktor	2,1 ± 0,8*	1,2 ± 0,7*	0,8 ± 0,5*	0,6 ± 0,6	1,5 ± 0,6*	0,8 ± 0,5*

Folytatás a következő oldalon.

Folytatás az előző oldalról.

<i>“Vas-kén klaszter összeszerelő” gének</i>							
AN10584	cisztein deszulfuriláz	$2,5 \pm 0,8^*$	$1,6 \pm 0,9^*$	$2,2 \pm 1,0^*$	$0,4 \pm 0,5$	$0,8 \pm 0,5^*$	$0,2 \pm 0,6$
AN2508	cisztein deszulfuriláz	$2,0 \pm 0,8^*$	$1,3 \pm 0,7^*$	$0,1 \pm 0,5$	$0,0 \pm 0,6$	$0,2 \pm 0,5$	$0,4 \pm 1,0$
AN4655	vas-kén transzferáz	$1,9 \pm 0,8^*$	$2,2 \pm 1,0^*$	$2,1 \pm 0,9^*$	$2,3 \pm 0,9^*$	$3,0 \pm 0,7^*$	$2,2 \pm 1,1^*$
AN0447	szerepe van a vas-kén klaszter összeszerelésében	$3,2 \pm 0,8^*$	$0,8 \pm 0,6^*$	$3,1 \pm 1,1^*$	$0,6 \pm 0,7$	$0,9 \pm 0,8^*$	$1,6 \pm 0,7^*$
AN1407	szerepe van a vas-kén klaszter összeszerelésében	$2,2 \pm 0,7^*$	$1,2 \pm 0,9^*$	$2,9 \pm 1,1^*$	$0,6 \pm 0,8$	$0,6 \pm 0,7$	$2,6 \pm 0,7^*$
AN2155	szerepe van a vas-kén klaszter összeszerelésében	$3,1 \pm 0,8^*$	$1,2 \pm 0,6^*$	$3,3 \pm 1,4^*$	$0,9 \pm 0,7^*$	$1,4 \pm 0,8^*$	$2,2 \pm 0,7^*$
AN3632	szerepe van a vas-kén klaszter összeszerelésében	$2,9 \pm 0,8^*$	$2,0 \pm 0,9^*$	$0,5 \pm 0,9$	$1,1 \pm 0,6^*$	$2,7 \pm 1,1^*$	$0,8 \pm 0,6$
AN5953	szerepe van a vas-kén klaszter összeszerelésében	$1,8 \pm 0,8^*$	$1,3 \pm 0,7^*$	$1,6 \pm 1,0^*$	$0,70 \pm 1,1$	$1,3 \pm 0,8^*$	$2,6 \pm 0,8^*$
AN8485	szerepe van a vas-kén klaszter összeszerelésében	$2,5 \pm 1,0^*$	$3,0 \pm 1,2^*$	$1,4 \pm 0,7^*$	$1,5 \pm 0,5^*$	$1,3 \pm 0,6^*$	$1,6 \pm 0,5^*$
AN10012	szerepe van a vas-kén klaszter összeszerelésében	$3,1 \pm 1,0^*$	$0,8 \pm 0,6^*$	$1,2 \pm 0,5^*$	$0,3 \pm 0,5$	$0,4 \pm 0,6$	$1,4 \pm 0,9^*$
AN11060	szerepe van a vas-kén klaszter összeszerelésében	$3,1 \pm 0,9^*$	$0,8 \pm 0,7^*$	$1,2 \pm 0,9^*$	$2,1 \pm 1,1^*$	$0,9 \pm 0,7^*$	$2,5 \pm 0,9^*$

Folytatás a következő oldalon.

Folytatás az előző oldalról.

“Két-komponensű szignál transzdukciós hálózat” gének								
AN5296	<i>tcsA</i>	hisztidin-kináz	$2,7 \pm 0,8^*$	$3,1 \pm 1,0^*$	$1,9 \pm 0,9^*$	$0,6 \pm 0,6$	$1,9 \pm 0,8^*$	$-0,1 \pm 0,5$
AN1800	<i>tcsB</i>	hisztidin-kináz	$4,2 \pm 1,1^*$	$2,2 \pm 0,7^*$	$1,3 \pm 0,7^*$	$2,4 \pm 1,2^*$	$1,4 \pm 0,8^*$	$-0,3 \pm 0,7$
AN3101	<i>phkB</i>	hisztidin-kináz	$1,5 \pm 0,8^*$	$-0,5 \pm 0,5$	$-1,3 \pm 0,4^*$	$-0,5 \pm 0,6$	$-0,6 \pm 0,6$	$-1,7 \pm 0,8^*$
AN7945	<i>hk2</i>	hisztidin-kináz	$4,2 \pm 1,1^*$	$-0,4 \pm 0,5$	$-0,1 \pm 0,7$	$0,2 \pm 0,7$	$0,6 \pm 0,7$	$0,4 \pm 0,8$
AN4113	<i>hk-8-2</i>	hisztidin-kináz	$2,6 \pm 0,5^*$	$-0,4 \pm 0,6$	$0,4 \pm 0,6$	$-0,3 \pm 0,7$	$-1,2 \pm 0,7^*$	$-1,1 \pm 0,6^*$
AN6820	<i>hk-8-3</i>	hisztidin-kináz	$2,9 \pm 1,0^*$	$-0,9 \pm 0,4^*$	$-2,0 \pm 1,1^*$	$0,3 \pm 0,6$	$0,4 \pm 0,6$	$0,9 \pm 0,7^*$
AN2363	<i>hk-8-6</i>	hisztidin-kináz	$3,5 \pm 1,3^*$	$1,8 \pm 0,8^*$	$-0,3 \pm 0,6$	$0,6 \pm 0,6$	$0,2 \pm 0,7$	$-0,9 \pm 0,5^*$
“Nitrát felhasználási” gének								
AN1006	<i>niaD</i>	nitrát reduktáz	$-1,0 \pm 0,5^*$	$-2,2 \pm 1,1^*$	$-4,3 \pm 1,2^*$	$0,5 \pm 0,6$	$-2,2 \pm 0,9^*$	$-1,9 \pm 1,1^*$
AN1007	<i>niiA</i>	nitrát reduktáz	$-1,5 \pm 0,7^*$	$-1,4 \pm 0,7^*$	$-3,2 \pm 1,0^*$	$0,2 \pm 0,6$	$-1,9 \pm 1,0^*$	$-2,1 \pm 1,2^*$
AN1008	<i>crnA</i>	nitrát transzporter	$-4,8 \pm 1,2^*$	$-1,1 \pm 0,7^*$	$-2,1 \pm 0,9^*$	$0,9 \pm 0,8^*$	$-2,4 \pm 1,1^*$	$-0,5 \pm 0,5$

Folytatás a következő oldalon.

Folytatás az előző oldalról.

Egyéb gének								
AN1168	<i>cch1</i>	kalcium ion transzporter	0,1 ± 0,6	0,8 ± 0,7*	-1,3 ± 0,6*	-0,6 ± 0,7	1,3 ± 0,8*	-0,4 ± 0,7
AN1628	<i>enaB</i>	kalcium ion transzporter	-1,5 ± 1,1	2,5 ± 1,2*	-1,2 ± 0,7*	0,4 ± 0,6	1,2 ± 0,5*	0,2 ± 0,7
AN4920	<i>pmcB</i>	kalcium ion transzporter	0,7 ± 0,8	1,9 ± 0,9*	2,1 ± 1,1*	-1,3 ± 0,6*	1,1 ± 0,5*	1,4 ± 0,7*
AN8842	<i>mid1</i>	kalcium ion transzporter	0,5 ± 0,7	0,8 ± 0,7*	0,3 ± 0,6	-1,3 ± 0,7*	1,3 ± 0,6*	-0,2 ± 0,6

A táblázat átlagolt $\pm$ S.D. értékeket tartalmaz. Az *actA* (AN6542) referencia gént használtuk.

* - t-teszt alapján 0-tól szignifikáns különbség ($p < 0,05$, $n = 4$).

3.4 Az AtfA fehérje hatása az *Aspergillus nidulans* szekunder metabolit génjeinek expressziójára

Az *A. nidulans* szekunder metabolit gének expressziós változásait a tBOOH, MSB, diamid mellett további háromféle stresszkezelés után is megvizsgáltuk. Ezek a 0,6 M NaCl, valamint az 5,0 mM és 75,0 mM koncentrációjú H₂O₂ voltak (9. és 10. táblázat).

A kontroll és $\Delta atfA$ törzsben a 467 szekunder metabolit gének (63 génklaszter) között az up-regulálódott és down-regulálódott géneket tekintve az alábbi különbségeket tapasztaltuk az eltérő stresszek alatt.

A gombában összesen 155 szekunder metabolit bioszintézis gén up-regulálódott az oxidatív stresszkezelések hatására. Ezek a gének 5 különböző klaszterbe tartoznak, és közülük összesen 29 gén, transzkripciós faktorokat, nem riboszómális peptid szintetázokat (NRPS), poliketid szintázokat (PKS), terpén-szintázokat vagy prenyl transzferázokat kódolnak. Ezeket az up-regulálódott szekunder metabolit géneket „kulcsgének” néven definiáltuk (Inglis és mtsi, 2013)(9. táblázat).

Emellett az *atfA* delécíóval a szekunder metabolit gének és „kulcsgének” nagy számban up-regulálódtak kis (5,0 mM) és a nagy (75,0 mM) koncentrációjú H₂O₂ kezelés hatására. Kis koncentrációjú H₂O₂ mellett 48 szekunder metabolit gén (15 „kulcsgén”), míg nagy (75,0 mM) koncentrációjú H₂O₂ stressz alatt összesen 68 szekunder metabolit gén (16 „kulcsgén”) up-regulálódtak a *ΔatfA* törzsben. Ezzel ellentétben *tBOOH* és diamid stressz alatt ezen gének száma jelentősen kisebb volt, és a down-regulálódtak gének száma volt magasabb a kontroll törzshöz képest. Ugyanis *tBOOH* stressz alatt összesen 71 gén (19 „kulcsgén”), míg diamid stressz alatt 82 gén (20 „kulcsgén”) down-regulálódtak a *ΔatfA* törzsben (**9. és 10. táblázat**).

Összességében a szekunder metabolit gének nagy része nem mutatott stresszfüggést (**10. táblázat**).

9. táblázat A szekunder metabolit gének és klaszterek stresszfüggő szabályozása (Emri és mtsi, 2015).

Stresszválasz									
		Nincs	MSB (12 mM)	H₂O₂ (5,0 mM)	H₂O₂ (75,0 mM)	tBOOH (0,8 mM)	Diamid (2,0 mM)	NaCl (0,6 M)	Összesen
Kontroll törzs									
Up-reguláció	Kulcsgének ^a		11	2**	5	16	16	4	29
	Összes gén		65	17**	25**	65	71	34**	155
	Klaszterek		2	0	0	3	1	0	5
Down-reguláció	Kulcsgének		11	3	8	8	8	9	19
	Összes gén		46	22	37	38***	52	39	112
	Klaszterek		5	1	0	1	3	2	7
<i>ΔatfA</i> törzs									
Up-reguláció	Kulcsgének		16	15*	16*	11	11	1	42
	Összes gén		53	48*	68*	60	54	29	179
	Klaszterek		2	3	2	2	0	0	7
Down-reguláció	Kulcsgének		5***	3***	5***	19*	20*	17***	31
	Összes gén		16*,***	22***	26***	71*	82*	70*,***	139
	Klaszterek		0	1	2	5	7***	5	9
<i>ΔatfA</i> törzs vs. kontroll törzs									
Up-reguláció	Kulcsgének	11							
	Összes gén	43							
	Klaszterek	4							
Down-reguláció	Kulcsgének	5							
	Összes gén	22***							
	Klaszterek	0							

* A THS 30.3 (kontroll) és a TNJ 92.4 (*ΔatfA*) törzsek között jelentős különbség van a Fisher-féle egzakt teszt ($p < 0,05$; $n_{\text{kulcsgének}}=94$; $n_{\text{összes}}=467$, $n_{\text{klaszterek}}=66$) alapján.

** Az MSB, tBOOH és diamid kezelések összehasonlítása alapján jelentős különbségek vannak a Fisher-féle egzakt teszt ($p < 0,05$; $n_{\text{kulcsgének}}=94$; $n_{\text{összes}}=467$, $n_{\text{klaszterek}}=66$) alapján.

*** Az up-regulálódott és down-regulálódott gének közötti szignifikáns különbségek a Fisher-féle egzakt teszt ($p < 0,05$; $n_{\text{kulcsgének}}=94$; $n_{\text{összes}}=467$, $n_{\text{klaszterek}}=66$) alapján.

^a Inglis és mtsi alapján adtuk meg a „kulcsgéneket”, amelyek transzkripciós faktorokat, nem riboszómális poliketid szintázokat, poliketid szintázokat, terpén szintázot vagy prenyil transzferázt kódoló szekunder metabolit klaszter gének (Inglis és mtsi, 2013).

A szekunder metabolit génklaszterek közül összesen 5 (AN7884 gén klasztere, AN6236 gén klasztere, AN1680 gén klasztere, AN10486 gén klasztere, „benzaldehyd és F9775 2-es hibrid” klaszter származéka) klaszterbe tartozó géneknek minimum 50 %-a mutatott up-regulációt a kontroll törzsben legalább egy stresszkezelést követően **(10. táblázat)**. Az up-regulációt mutató klasztergének között a klaszter „kulcsgénje” is megtalálható volt. A stresszfüggő down-regulációt mutató klasztergének közé tartoznak az emericellamid (antibiotikum) klaszterhez, az AN2924, az AN8209 és az AN7838 (AN12331) gének klasztereihez, valamint a mikroperfuranon, az AN6236 és a nem „PKS/NRPS backbone 4” klaszterekhez tartozó gének **(10. táblázat)**.

Emellett a *ΔatfA* törzsben három különböző szekunder metabolit génklaszterhez (a „monodiktifenon” klaszter, a „benzaldehyd és F9775 1-es hibrid származéka” klaszter és a „pkf” klaszter) tartozó génnek legalább a fele up-regulálódott mind kezeletlen körülmények, mind kis és nagy koncentrációjú H₂O₂ stressz hatására. Ugyanakkor *tBOOH*, NaCl és diamid stressz alatt ezen klasztergének down-regulálódtak, kivéve a „monodiktifenon” klasztergének diamid stressz alatti up-regulációját **(10. táblázat)**. A klasztergének nagy része azonban nem reagált a különböző stressz kezelésekre.

10. táblázat Az *A. nidulans* szekunder metabolit génklaszterek stressz-függése.

Klaszter	Méret ¹	Regulált gének	Stressz-függés ²	Regulált “kulcsgének”
AN7884 klaszter	15	9	MSB stresszben up-regulálódott (kontroll)	AN7884 (NRPS), AN7872 (TF)
	(14 chip-en)	7	MSB stresszben up-regulálódott (<i>ΔatfA</i>)	AN7872 (TF)
“Monodictyphenone” (mdp) klaszter	12	6	<i>atfA</i> delécióval up-regulálódott	AN0150 (PKS), AN0148 (TF)
	(11 chip-en)	11	5,0 mM H ₂ O ₂ stresszben up-regulálódott	AN0150 (PKS), AN0148 (TF)
		10	75,0 mM H ₂ O ₂ stresszben up-regulálódott (<i>ΔatfA</i>)	AN0150 (PKS), AN0148 (TF)
		8	<i>tBOOH</i> stresszben down-regulálódott (<i>ΔatfA</i>)	AN0150 (PKS), AN0148 (TF)
		8	NaCl stresszben down-regulálódott (<i>ΔatfA</i>)	AN0150 (PKS)
Benzaldehid és F9775 2-es hibrid származék” klaszter ³	10	6	<i>tBOOH</i> stresszben up-regulálódott (kontroll)	AN7909 (PKS)
Benzaldehid és F9775 1-es hibrid származék” klaszter	9	7	<i>atfA</i> delécióval up-regulálódott	AN903 (PKS), AN7896 (TF)
		5	75,0 mM H ₂ O ₂ stresszben up-regulálódott (<i>ΔatfA</i>)	AN7903 (PKS), AN7896 (TF)
		6	<i>tBOOH</i> stresszben down-regulálódott (<i>ΔatfA</i>)	AN7903 (PKS), AN7896 (TF)

Folytatás a következő oldalon.

Folytatás az előző oldalról.

		6	diamid stresszben down-regulálódott (<i>ΔatfA</i>)	AN7903 (PKS), AN7896 (TF)
		6	NaCl stresszben down-regulálódott (<i>ΔatfA</i>)	AN7903 (PKS), AN7896 (TF)
pkf klaszter ³	6	6	<i>atfA</i> delécióval up-regulálódott	AN3230 (PKS)
		4	5,0 mM H ₂ O ₂ stresszben up-regulálódott (<i>ΔatfA</i>)	AN3230 (PKS)
		4	<i>t</i> BOOH stresszben down-regulálódott (<i>ΔatfA</i>)	AN3230 (PKS)
		5	diamid stresszben down-regulálódott (<i>ΔatfA</i>)	AN3230 (PKS)
		5	NaCl stresszben down-regulálódott (<i>ΔatfA</i>)	AN3230 (PKS)
Emericellamid (eas) klaszter ³	5	3	MSB stresszben down-regulálódott (kontroll)	AN2545 (NRPS), AN2547 (PKS)
		3	<i>t</i> BOOH stresszben down-regulálódott (kontroll)	AN2545 (NRPS), AN2547 (PKS)
		3	diamid stresszben down-regulálódott (kontroll)	AN2545 (NRPS), AN2547 (PKS)
		3	NaCl stresszben down-regulálódott (kontroll)	AN2545 (NRPS), AN2547 (PKS)
		3	75,0 mM H ₂ O ₂ stresszben down-regulálódott (<i>ΔatfA</i>)	AN2545 (NRPS), AN2547 (PKS)
		3	<i>t</i> BOOH stresszben down-regulálódott (<i>ΔatfA</i>)	AN2545 (NRPS), AN2547 (PKS)

Folytatás a következő oldalon.

Folytatás az előző oldalról.

		3	diamid stresszben down-regulálódott (<i>ΔatfA</i>)	AN2545 (NRPS), AN2547 (PKS)
		3	NaCl stresszben down-regulálódott (<i>ΔatfA</i>)	AN2545 (NRPS), AN2547 (PKS)
AN1680 klaszter	4	3	diamid stresszben up-regulálódott (kontroll)	AN1680 (NRPS), AN1678 (TF)
AN2924 klaszter ³	4	4	MSB stresszben down-regulálódott (kontroll)	AN2924 (NRPS)
		4	diamid stresszben down-regulálódott (kontroll)	AN2924 (NRPS)
		4	diamid stresszben down-regulálódott (<i>ΔatfA</i>)	AN2924 (NRPS)
AN8209 (wA) klaszter ³	4	3	MSB stresszben down-regulálódott (kontroll)	AN8209 (PKS)
AN12331 klaszter, AN7838 (AN12331) klaszter ^{3,4}	4	3	75,0 mM H ₂ O ₂ stresszben down-regulálódott (kontroll)	
Mikroperfuranon (mic) klaszter ³	3	3	MSB stresszben down-regulálódott (kontroll)	AN3396 (NRPS)
		3	5,0 mM H ₂ O ₂ stresszben down-regulálódott (<i>ΔatfA</i>)	AN3396 (NRPS)
		3	diamid stresszben down-regulálódott (<i>ΔatfA</i>)	AN3396 (NRPS)

Folytatás a következő oldalon.

Folytatás az előző oldalról.

AN6236 klaszter ³	3	3	<i>t</i> BOOH stresszben up-regulálódott (kontroll)	AN6236 (NRPS)
		2	<i>t</i> BOOH stresszben up-regulálódott (<i>AtfA</i>)	AN6236 (NRPS)
		2	MSB stresszben down-regulálódott (kontroll)	AN6236 (NRPS)
		2	NaCl stresszben down-regulálódott (kontroll)	AN6236 (NRPS)
		3	5,0 mM H ₂ O ₂ stresszben down-regulálódott (<i>AtfA</i>)	AN6236 (NRPS)
AN10486 klaszter	3	2	MSB stresszben up-regulálódott (kontroll)	AN10486 (NRPS), AN10491 (TF)
		2	<i>t</i> BOOH stresszben up-regulálódott (kontroll)	AN10486 (NRPS), AN10491 (TF)
		2	MSB stresszben up-regulálódott (<i>AtfA</i>)	AN10486 (NRPS), AN10491 (TF)
		2	<i>t</i> BOOH stresszben up-regulálódott (<i>AtfA</i>)	AN10486 (NRPS), AN10491 (TF)
		2	diamid stresszben down-regulálódott (<i>AtfA</i>)	AN3911 (TF), AN10491 (TF)
“No PKS/NRPS backbone 4” klaszter ^{3,4}	3	2	diamid stresszben down-regulálódott (kontroll)	

Folytatás a következő oldalon.

Folytatás az előző oldalról.

ivo klaszter ³	2	2	<i>atfA</i> delécióval up-regulálódott	AN10576 (NRPS)
		2	5,0 mM H ₂ O ₂ stresszben up-regulálódott (<i>ΔatfA</i>)	AN10576 (NRPS)
		2	<i>tBOOH</i> stresszben down-regulálódott (<i>ΔatfA</i>)	AN10576 (NRPS)
		2	diamid stresszben down-regulálódott (<i>ΔatfA</i>)	AN10576 (NRPS)
		2	NaCl stresszben down-regulálódott (<i>ΔatfA</i>)	AN10576 (NRPS)

¹ - Manuálisan vagy kísérletesen meghatározott klaszterek génjei szerepeltek az elemzésben (Vogel és mtsi, 2011).

² – Törzsek és stressz körülmények leírását lsd **1. táblázat**.

³ – Nincs transzkripció faktort kódoló gén a manuálisan/kísérletesen meghatározott vagy annotált klasztergének között.

⁴ - Nincs poliketid szintázt, nem riboszómális peptid szintáz, prenyl transzferázt vagy terpén szintázt kódoló gén a manuálisan/kísérletesen meghatározott vagy annotált klasztergének között.

4. Eredmények megbeszélése

4.1 A vizsgált *Aspergillus* gombafajok eltérő oxidatív stresszválasza

Kísérleteinkben általában oxidatív stressz létrehozására kétféle stresszort alkalmaztunk, a peroxid stresszet kiváltó H_2O_2 -t, valamint a MSB-t, amely megnövekedett szuperoxid anion koncentrációt okoz, és ezáltal generál oxidatív stresszt. A peroxidok és a szuperoxid gyök anioinok ($O_2^{\bullet-}$) felhalmozódása súlyos károsító folyamatokat eredményez a sejten belül, ugyanis kémiaiilag módosítja a fehérjéket, a DNS-t, a lipideket, vagy más fontos metabolitokat (Lushchak és mtsi, 2011; Halliwell és Gutteridge, 1999). Eredményeink azt mutatják, hogy a vizsgált 17 gombafaj egymástól eltérően reagált a H_2O_2 , illetve az MSB hatására kialakult stresszre (de Vries és mtsi, 2017).

A 17 *Aspergillus* faj közül H_2O_2 jelenlétében a két *A. niger* (CBS 113.46 és NCCB 402) törzs, valamint az *A. oryzae* (Rib40) és az *A. nidulans* (FGSCA4) fajok bizonyultak a legtüreklépesebbnek 37 °C-on történő 5 napos inkubáció során. Ezzel ellentétben azt tapasztaltuk, hogy az *A. fumigatus* volt a legérzékenyebb faj a H_2O_2 okozta stresszre (de Vries és mtsi, 2017; Orosz és mtsi, 2018; <http://www.fung-stress.org/>).

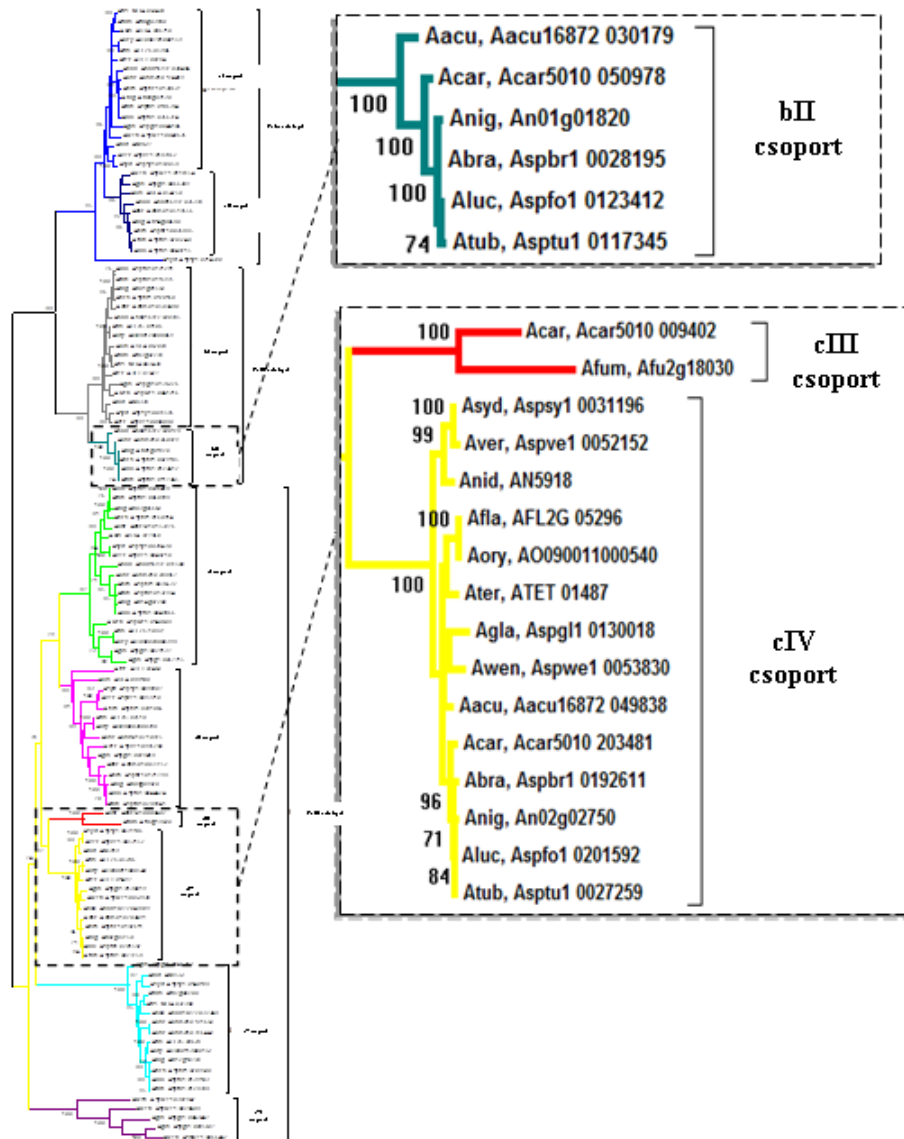
A feltételezetten peroxiszómális elhelyezkedésű C típusú kataláz fehérje (CatC) állandó expressziós szinttel rendelkezik, és megfigyelték, hogy az *A. nidulans* gombafajban oxidatív vagy más típusú stressz alatt nem indukálódik (Kawasaki 2001). Ezen túlmenően a kutatások feltárták, hogy az *A. fumigatus* cIII. csoportba tartozó kataláza, az EasC fehérje az ergot alkaloid kanoklavin I szintézisében, valamint a H_2O_2 lebontásában is részt vesz (Goetz és mtsi, 2011). de Vries és munkatársai által elvégzett összehasonlító genomikai elemzés feltárta, hogy *A. fumigatus* gombában

megfigyelt cIV csoportbeli CatC hiánya és a cIII csoportba tartozó CatC jelenléte talán magyarázat lehet a gomba viszonylag gyenge H₂O₂ tűrésére, illetve kimagaslóan nagy Cd(II) toleranciájára (**12. ábra**). Az *A. carbonarius* fajban szintén megfigyelhető volt a cIII csoportú CatC, viszont az *A. fumigatus*-tól eltérően ez a gombafaj rendelkezik cIV csoportú katalázzal (Acar_5010_203481) is (de Vries és mtsi, 2017) (**12. ábra**). Mindezek alapján azt feltételezzük, hogy cIII csoportbeli katalázok egy ősi duplikációs esemény következtében alakultak ki, és valószínűleg a többi C-típusú kataláz funkciótól eltérő működésűek.

Emellett, számos *Aspergillus* törzsben fellelhetők a CatB fehérjékhez filogenetikailag közelálló, újípusú, antioxidáns tulajdonsággal nem rendelkező katalázok is (cII csoport). Természetesen ezen enzimek fiziológiai funkciójának igazolása érdekében elengedhetetlen további genetikai és élettani vizsgálat elvégzése és kiértékelése (de Vries és mtsi, 2017).

További ugyancsak oxidatív stressz toleráns fajok voltak az *A. brasiliensis*, *A. wentii*, *A. versicolor* és az *A. aculeatus*. Ezek a gombák viszont az MSB okozta stresszt voltak képesek erősen tolerálni 37 vagy 25 °C-on. Az *A. brasiliensis* esetében a kiemelkedő MSB rezisztenciát valószínűleg a benne újonnan feltárt két újípusú SodA fehérje okozza (de Vries és mtsi, 2017; Orosz és mtsi, 2018; <http://www.fung-stress.org/>; Oberegger és mtsi, 2000).

Katalázok



12. ábra Az *Aspergillus* fajokban feltárt katalázok dendogramja. A kataláz ortológokat a 4 betűből álló fajnevek azonosítják, locus ID-k az AspGD-ben található. Az *A. carbonarius* és *A. fumigatus* fajok vizsgált törzseinek genomjában a többi fajtól eltérően megtalálható egy cIII csoportbeli kataláz fehérje génje. Emellett az *A. fumigatus* genomjából hiányzik a cIV-típusú kataláz génje (de Vries és mtsi, 2017; Dr. Miskei Márton munkája).

A gombák változatos élőhelyekről származnak, ahol különböző típusú stresszeknek vannak kitéve (Nikolaou, 2009; Gasch és mtsi, 2000), mint az általunk vizsgált 18 *Aspergillus* törzs is (JGI- The Joint Genome Institute (www.jgi.doe.gov); Samson és mtsi, 2004; Raper és Fennell 1965). Vizsgálati eredményeink is azt mutatják, hogy ezen gombák stressz elleni védekező rendszerei gyorsan evolválódnak, amely lehetővé teszi bármely ökológiai „niche” hatékony elfoglalását. Ezért feltételezzük, hogy a gombákban kialakult eltérő, fajspecifikus stresszválaszok mögött az állandóan változó körülményekhez való folyamatos adaptálódás áll. Mindent összevetve elmondható, hogy az *Aspergillus*ok eltérő oxidatív stressztűrése a fajonként megjelenő új antioxidáns enzimeknek és szabályozó elemeknek köszönhető, amelyek révén az adott gombafaj hatékony védekező rendszert képes kiépíteni.

Mivel az *Aspergillus* fajok oxidatív stresszválaszában számos különbséget láttunk, fontos volt egy olyan modellfajt találnunk, amelyre vonatkozóan már sok feltárt és értékes információval rendelkezünk. Ezért az *A. nidulans* FGSC A4 törzs oxidatív stresszválaszát kutattuk tovább, amelyen belül az egyik fő regulátor fehérje, az AtfA szabályozó szerepét vizsgáltuk (Orosz és mtsi, 2017; Emri és mtsi, 2015).

4.2 Az AtfA transzkripció faktor feltételezett szerepe az *Aspergillus nidulans* oxidatív stresszválaszában

Az *A. nidulans* tBOOH, és MSB és diamid által kiváltott oxidatív stressz alatt bekövetkező genom szintű transzkripció változásait figyeltük meg.

A kapott transzkripció adatokból egy három hipotézisből álló modellt állítottunk fel, hogy értelmezheessük az *A. nidulans* AtfA transzkripció faktorának oxidatív stresszben betöltött funkcióját.

1. hipotézis: Az AtfA fehérje közvetve vagy közvetlenül számos olyan gén szabályozásában vesz részt, amelyek a stresszválasz regulátor elemeket kódolnak. Mindez magyarázat lehet arra, hogy az *atfA* deléciónak mi volt hatással a különböző funkcióval rendelkező gének expressziójára ilyen nagy számban.

Kísérleteinkben összesen 26 szignáltranszdukciós fehérjét vagy feltehetően szignáltranszdukciós fehérjét kódoló gén kifejeződése mutatott AtfA-függést (**11.e ábra**). Közülük a „kétkomponensű szignáltranszdukciós rendszer” néhány eleme érdekesnek tűnik (**8. táblázat**). Sok, ebbe a csoportba tartozó gén más génekkel együtt szintén AtfA-függő szabályozást mutatott, amikor a stresszmentes körülmények között tenyésztett kontroll és *ΔatfA* mutáns törzsből származó transzkriptomokat összehasonlítottuk (Emri és mtsi, 2015). Silva és munkatársai nemrégiben leírták, hogy *A. fumigatus* gombában az *atfA* és *atfB* szabályozás alatt álló MpkC és SakA fehérjék (Hog1 ortológok, hiperozmotikus stresszválasz elsődleges szabályozója) szintén hatással vannak a „kétkomponensű szignáltranszdukciós rendszer” génjeire (Silva és mtsi, 2017). A legtöbb, összesen 7 db „kétkomponensű szignáltranszdukciós rendszer” gén MSB stressz alatt up-regulálódott, amely valószínűleg fontos pozitív visszacsatolás ebben a fajta stresszválaszban (**8. táblázat**). Ezek közül a gének közül 5 AtfA-függést mutatott, amely megindokolhatja az MSB stressz alatt bekövetkezett transzkriptomikai változást. Ugyanis az AtfA függő gének (1557) több mint a felének (57%) az expressziója MSB stresszkezelés hatására változott meg (**10.c ábra**; Orosz és mtsi, 2017; Emri és mtsi, 2015).

2. hipotézis: Az AtfA más stressz szabályozó elemekkel és/vagy transzkripció szabályozó fehérjékkel működhet együtt. Korábban

kimutatták, hogy az AtfA transzkripciós faktor más fajokban meglévő ortológjai és paralógjai képesek kölcsönhatásba lépni más bZIP-típusú transzkripciós faktorokkal, vagy akár szignáltranszdukciós útvonalak fehérjéivel is (Reinke és mtsi, 2013). Ilyen például a *S. pombe* Atf1 fehérjéje, amely a Pcr1 bZIP-típusú transzkripciós faktorral heterodimert képez (Sanso és mtsi, 2008), míg a Cid12 poli(A) polimerázzal fizikai interakcióba lép (Vo és mtsi, 2016). Ezenkívül az *A. parasiticus* AtfB fehérjéje a szintén bZIP-típusú AP-1 fehérjével képez heterodimert (Roze és mtsi, 2011). További példa, hogy a búza patogén *Fusarium graminearum* gomba FgAtfA1 fehérjéje stressz típustól függően hatással volt az antioxidáns enzimek képződésére (Van Nguyen és mtsi, 2013). Ezenfelül Sanso és munkatársai azt feltételezik, hogy az *A. nidulans* AtfA fehérje fizikai kölcsönhatást alakíthat ki az AtfB (AN8643) fehérjével (Sanso és mtsi, 2011). A létrejött kölcsönhatás módosíthatja mind az AtfA, mind az interakciós partner biológiai aktivitását. Feltételezzük, hogy az AtfA stresszenként különböző fehérjékkel léphet kölcsönhatásba, és amelytől függően eltérő gének szabályozásában vesz részt. Ez az állítás magyarázat lehet a **10.c ábrán**, a **11.e ábrán** és az **6. táblázatban** is bemutatott változásokra. Ugyanis tBOOH, MSB és diamid okozta stresszben összesen 1557 génből 785 gén up-regulálódott és 772 gén down-regulálódott AtfA-függő módon, amelyek több mint a fele (883, a gének 57 %) MSB stressz alatt volt mérhető.

3. hipotézis: Az AtfA fehérje közvetve vagy közvetlenül gátolja a szignáltranszdukciós hálózat elemek és/vagy egyéb transzkripciós faktorok aktivitását. Ugyanis AtfA hiányában a koregulált gének szabályozását nézve számukban meghatározó eltérést nem láttunk, viszont összetételük jelentősen megváltozott (**10. a, b és d ábrák**). Az AtfA fehérje MSB stressz alatt nagy valószínűséggel meggátolta a tBOOH stressz specifikus gének választát. A

*t*BOOH és MSB stressz közötti ún. aszimmetrikus „cross talk” hatására számos AtfA-függő gén (883 gén, **10.c ábra**) elveszítette MSB stresszérzékenységet, míg jó néhány *t*BOOH stresszválasz gén (312 gén) MSB stresszérzékennyé vált a *ΔatfA* mutáns törzsben (Orosz és mtsi, 2017).

E modell alapján az AtfA transzkripció faktor az oxidatív stressz szabályozó mechanizmusaiban fontos szerepet tölt be, ezen belül közvetve vagy közvetlenül képes aktiválni és down-regulálni bizonyos oxidatív stresszválasz géneket (Orosz és mtsi; 2017).

4.3 Az AtfA transzkripció faktor hatása az *A. nidulans* oxidatív stresszválasz elemeire

Az oxidatív stressz gátolta mind a „riboszóma biogenezis” géneket, mind a „mitotikus sejtciklus” géneket valamennyi stressz generáló ágens jelenlétében. Ezen gének inhibíciója általánosan megfigyelt jelenség az erős stressz alatti gombákban (Imlay és mtsi, 2013; Morano és mtsi, 2012). Például az élesztő sejteknél belső rendszerük káros környezeti hatásokkal szembeni védelme érdekében ~900 gén (ESR; environmental stress response) expressziója változik meg, és amely rendszerint megvédi a stressznek kitett sejtet. Ezen expressziós változások azonban gén- és stresszspecifikus szabályozás alatt állnak az élesztő sejtekben (Gasch, 2003).

Az antioxidáns enzimeket kódoló gének up-regulációját mind a három stressz körülmény esetén megfigyeltük (**8. táblázat, 2. függelék**), amely jelenség tipikus oxidatív stresszválasz elemnek is mondható (Staerck és mtsi, 2017; Imlay és mtsi, 2013, Toledano és mtsi, 2003).

Továbbá a tioredoxin, glutaredoxin, és glutation rendszer hatékony aktivitásához elengedhetetlenül szükséges a magas szintű és folyamatos NADPH ellátás (Ferdandes és Holmgren, 2004). Viszont azt figyeltük meg, hogy a pentóz-foszfát útvonal (az egyik legfontosabb NADPH termelő út)

génjei nem up-regulálódtak oxidatív stressz alatt a glükóz szénforráson növekvő gombában (**8. táblázat, 2. függelék**) a vizsgált körülmények között. Ugyanis élesztőkben a glükóz-6-foszfát-dehidrogenáz (G6PDH) és a 6-foszfoglükonát dehidrogenáz (6PGDH) génjének indukciója az általános oxidatív stresszválasz lépései között szerepel (Gasch, 2003; Toledano és mtsi, 2003). Karácsony és munkatársai (2015) kimutatták, hogy hosszabb kezelési időtartamot követően a G6PDH enzimaktivásban jelentős változások történtek menadion és diamid kezelések hatására (Karácsony és mtsi, 2015). Egy korábbi kutatásban pedig a Tanszék dolgozói kimutatták, hogy *A. nidulans*ban lévő pentóz-foszfát útvonal feltételezetten glükóz-6-foszfát dehidrogenáz funkcióval rendelkező GsdA fehérjéje (AN2981) szintén up-regulálódott tartós MSB kezelés során és a G6PDH fehérje szint növekedését írták le (Pusztahelyi és mtsi, 2011). Emellett a nitrát redukció klaszterbe tartozó gének (*niaD*, *niiA*, és *crnA*; Johnstone 1990) mind a három általunk vizsgált stressz körülményben down-regulálódtak (**8. táblázat**). Az így csökkent nitrát metabolizáció segít fenntartani a folyamatos NADPH termelést az oxidatív stressz generáló ágensek káros hatásainak semlegesítésére. Ugyanakkor a nitrát metabolizmus számos reaktív nitrogén részecske keletkezése ellen is védelmet biztosít (Meyer és mtsi, 2005), vagy a csökkent metabolizmus egyszerűen a stressznek kitett tenyészetek csökkent növekedésének tudható be.

Az oxidatív stressz a primer metabolizmusban is változásokat okozott, például az aminosav-bioszintézishez, valamint az aminosav-degradációhoz köthető géneknek megváltozott az expressziója mind a három stresszkezelés következtében. Mindez azonban nem feltétlenül jelenti azt, hogy ezen folyamatok szabályozásában nagyszámú COSR gén vesz részt. Például a „riboszóma biogenezis” gének esetében 110 down-regulálódott gén közül

csupán 1 gént találtunk mind a három stressz generáló ágens jelenlétében, ám a down-regulálódott gének száma jelentős volt külön-külön is mind a három stressz alatt (**10.a ábra, 2. függelék**).

Eredményeink továbbá azt mutatták, hogy a lipid peroxidáló tulajdonságáról is ismert *tBOOH* stresszor (Davies, 1989) jelenlétében a peroxisómához köthető folyamatok aktiválódtak *A. nidulans* sejtekben. Emellett néhány szterin bioszintézis gén down-regulálódott ezen stressz ágens jelenlétében. A szterin csökkent termelődését az oxidatív stresszválasz általánosan előforduló folyamataként írták le, amely a membrán lipidperoxidáció alatti fluiditásának fenntartására jött létre (Montanes és mtsi, 2011).

Mindemellett a „sziderofór bioszintézis” gének expresszióját is megfigyeltük *tBOOH* által indukált stresszben. Valószínűleg a sziderofórok a vASFelszívódás és raktározás mellett oxidatív stressz elleni védekező szereppel is rendelkeznek. Az *A. fumigatus* gomba esetében kimutatták, hogy a csökkent sziderofór tartalom növelte a gomba oxidatív stresszérzékenységét (Brandon és mtsi, 2015).

MSB stressz alatt jelentős volt az ER-specifikus folyamatok down-regulációja. Eredményeink is azt mutatják, hogy az ER-ban zajló oxidatív fehérje hajtogatódás és/vagy az ER-kapcsolt NADPH oxidázok fontos forrásául szolgálhatnak a reaktív oxigénformáknak, mint például a szuperoxidnak (Tan és mtsi, 2009; Rinnerthaler és mtsi, 2012). Így MSB stresszben létrejövő ER-kapcsolt folyamatok down-regulációja egyfajta válasz lehet az intracellulárisan megnövekedett szuperoxid szintre.

Számos tanulmányban olvasható, hogy a katalázt vagy glutation peroxidázt kódoló gének AtfA/Atf1-függő módon indukálódnak különböző stresszek hatására (Jaimes-Arroyo, 2015; Balázs és mtsi, 2010; Nakagawa,

2000). Ezzel ellentétben, vizsgálati eredményeinkben az antioxidáns enzimek indukciója nem mutatott AtfA-függést. Ezen gének aktivációja általánosan megfigyelhető oxidatív stressz alatt, és szabályozásuk AtfA-független módon történik.

Megfigyeltük, hogy az AtfA fehérje pozitívan szabályozza a jelátviteli útvonal elemeit, mint például a „kétkomponensű szignáltranszdukciós rendszer” génjeit, amelyek jelentősen megnövelik az AtfA-függő stresszválasz gének számát és sokféleségét. Az AtfA-függő „kétkomponensű szignáltranszdukciós rendszer” génjeinek up-regulációja különösen MSB okozta oxidatív stressz alatt volt jelentős. Ezenfelül az AtfA kölcsönhatásba lép a jelátviteli útvonal elemeivel, amely a stresszválasz gének stressz-specifikus szabályozásához vezet. Az eredmények alapján azt láttuk, hogy az AtfA közvetlenül vagy közvetve megakadályozza a *tBOOH*-specifikus gének MSB stressz alatti aktiválódását, amely hozzájárul a *ΔatfA* mutánsban megtalálható COSR gének számának növekedéséhez (Orosz és mtsi; 2017).

Tehát láthatjuk, hogy a stressz-specifikus különbségek a különböző stresszválasz gének stresszfüggő szabályozásával állnak kapcsolatban (**11. ábra**). Mindezek az eredmények azt mutatják, hogy az MSB, *tBOOH* és diamid stressz ágensek egymástól teljesen eltérő természetű stresszt indukálnak az *A. nidulans* gombában.

4.4 Az AtfA fehérje szerepe az *Aspergillus nidulans* szekunder metabolizmusában

Adataink azt mutatják, hogy oxidatív stressz során az *A. nidulans* szekunder metabolit termelésének szabályozása is megváltozik. Korábban már számos gombafaj esetében megfigyelték az oxidatív stressz alatti szekunder metabolit termelés up-regulációját illetve antioxidánsok általi down-regulációját (Cary és mtsi, 2014; Hong és mtsi, 2013; Subramaniam és

Rampitsch, 2013; Yin és mtsi, 2013; Roze és mtsi, 2011; Reverberi és mtsi, 2010). Montibus és munkatársai növény patogén gombák (*Fusarium spp.*) estében írták le azt, hogy az oxidatív stressz és a szekunder anyagcsere közötti kapcsolat úgy értelmezhető, mint egy adaptív mechanizmus, amely a gazdanövény és a gomba közötti molekuláris párbeszédéből származik (Montibus és mtsi, 2013). Ugyanis a *Fusarium graminearum* gomba esetében a búzát megbetegítő dezoxinivalenol mikotoxin termelése fokozódott peroxid stressz hatására (Ponts és mtsi, 2007). Ezenfelül az *Aspergillus* gombafajokban is már feltártak a szekunder metabolizmust és oxidatív stresszválaszt szintén szabályozó transzkripciós faktorokat, mint például a NapA, AtfB, AP-1 fehérjéket (Hong és mtsi, 2013; Roze és mtsi, 2011). További hasonló szabályozó fehérjét az *A. nidulans*ban is leírtak, ugyanis az RsmA bZIP-típusú fehérjéje a szterigmatocisztin (ST) bioszintézis génjeinek aktiválásán keresztül a másodlagos anyagcsere helyreállításában vesz részt (Yin és mtsi, 2013, 2012).

Megfigyeléseink alapján feltételezzük, hogy az AtfA transzkripciós faktor fontos szerepet tölthet be az *A. nidulans* oxidatív stresszválaszának és szekunder metabolit termelésének összehangolt szabályozásában. Ugyanis a kontroll és a *ΔatfA* törzs szekunder metabolit bioszintetikus génjeire szinte valamennyi stresszor hatással volt (**9. táblázat**). Emellett a *ΔatfA* törzs szekunder metabolit génjei kicsi (5,0 mM) és nagy (75,0 mM) H₂O₂ koncentrációk hatására nagymértékben up-regulálódtak. Munkánk azt bizonyítja, hogy ha oxidatív stressz alatt egy gomba létfontosságú, oxidatív stresszválaszt szabályozó fehérjéjének génje hiányzik, akkor kedvező feltételek jöhetnek létre szekunder metabolitjainak a túltermelésére. E módszer által ismeretlen klasztergéneket aktiválhatunk, ami új szekunder metabolit molekulák feltárásához vezethet el.

Ezen túlmenően azt láttuk, hogy amíg a NapA transzkripció faktor csak a kontroll törzsben up-regulálódott, addig az RsmA fehérje mindkét törzsben aktív volt az oxidatív stressznek kitett tenyészetekben. Ennek alapján mind a sejt redox homeosztázisának fenntartása, mind szekunder metabolit termelése az *A. nidulans* oxidatív stresszválaszának elválaszthatatlan részeit képezik (Emri és mtsi, 2015). Mindez arra enged következtetni, az RsmA és a NapA képes az *A. nidulans*ban végbemenő stresszválasz szabályozás és szekunder metabolit termelés összekapcsolására (Hong, 2013; Yin és mtsi 2013, 2012).

Számos tanulmány leírta a gombák szekunder metabolitok termelése és egyes fejlődésbeli folyamataik közötti összefüggéseket. Calvo és munkatársai a szekunder metabolit termelés és a sporuláció közötti biológiai kapcsolatot tárták fel. Ennek alapján a szekunder metabolitokat három nagy csoportba sorolhatjuk: 1. sporulációt aktiváló metabolitok (pl. az *A. nidulans*ban termelődő linolénsav származékok), 2. pigmentek (pl. a gomba spórákban megtalálható melanin), 3. toxikus anyagcseretermékek (pl. mikotoxinok) (Calvo és mtsi, 2002). Rodríguez-Urra és munkatársai pedig két szekunder metabolit, a diorcinol és a dehidroausztinol spóráképződésre gyakorolt pozitív hatását írták le *A. nidulans*ban. (Rodríguez-Urra és mtsi, 2012).

Emellett az aflatoxint termelő *A. parasiticus* fonalas gomba szekunder metabolizmusában oxidatív stressz regulátor transzkripció faktorok vesznek részt. Ezek az ApyapA, AtfB és Nap1 fehérjék. Kimutatták, hogy összefüggés van ebben a gombában végbemenő ROS akkumuláció, az oxidatív stresszválaszban résztvevő transzkripció faktorok aktivációja, az antioxidáns gének up-regulációja, illetve az aflatoxin termelődésének fokozódása között (Hong és mtsi, 2013; Roze és mtsi, 2011). Ugyanis A.

*parasiticus*ban az *ApyapA* (*YAP1* ortológ gén) deléciója következtében a gomba a vad típushoz képest fokozottan érzékennyé vált az extracelluláris oxidánsokra, a hirtelen kialakult ROS és aflatoxin akkumulációra, valamint a konídiumok korai kialakulására (Hong és mtsi, 2013; Reverberi és mtsi, 2008). Továbbá leírták, hogy ezen gombafaj AtfB fehérjéje hozzákötődik az olyan aflatoxin bioszintetikus génekhez, amelyek promóterükben CRE motívumot tartalmaznak (*nor-1*, *fas-1*, *ver-1* és *omtA*) (Hong és mtsi, 2013; Roze és mtsi, 2011).

Tehát az oxidatív stressz szekunder metabolit termelésre, köztük mikotoxinok képződésére gyakorolt hatását mindenképpen figyelembe kell vennünk kutatómunkánk során, legyen az egy kísérlet, vagy az iparban végbemenő bármilyen kis- vagy nagyléptékű gyártási technika megtervezése. A fonalas gombák stresszválaszát és szekunder metabolizmusát szabályozó szignáltranszdukciós hálózatok megértésével a jövőben új, stressztoleráns szekunder metabolit termelő vagy csökkent mikotoxin előállító gombatörzsek fejleszthetők.

Eredményeink számos új információt tártak fel az *Aspergillus*ok oxidatív stresszválaszával kapcsolatban. Ahhoz, hogy feltételezésünket megerősítsük a jövőben további gén deléciós mutáns *Aspergillus* törzsek létrehozásával vizsgálhatnánk a különböző szabályozó fehérjék szerepét. Ezenfelül az *A. nidulans*ban már leírt és vizsgált AtfA transzkripció faktor ortológjait is megtalálhatjuk bioinformatika elemzésekkel, hogy amennyiben jelen vannak, feltérképezhessük a többi *Aspergillus* faj hasonló központi stresszválasz szabályozóit. Ezáltal például az élelmiszeriparban citromsav gyártására használt *A. niger* gomba oxidatív stresszel szembeni védelmi mechanizmusait is jobban megismerhetnénk, amely egy hatékonyabb fermentációs technológia kifejlesztéséhez vezethetne (Kola és mtsi, 2017;

Park és mtsi, 2017; Li és mtsi, 2009). Ezen adatok szintén nagyon hasznosak lehetnek a humán orvoslásban súlyos aszpergillózist okozó opportunistá patogén gombával, az *A. fumigatus*al folytatott kutatásokban (Li és mtsi, 2017; Hagiwara, 2014; Abad és mtsi, 2010; Latgé JP, 1999). Korábban már leírták e gomba AtfA transzkripciós faktorának a csírázás folyamatában való szerepét, ugyanis hiányában az *A. fumigatus* konídiumok oxidatív stresszre fokozottan érzékenyekké váltak (Hagiwara és mtsi, 2014). Emellett a mikotoxinokat előállító gombák, mint például aflatoxint termelő *Aspergillus* gombák biokontroll alatt tartásában is felhasználhatók lehetnek ezek az információk (Hong és mtsi, 2013; Roze és mtsi, 2011; Payne és mtsi, 2006).

5. Anyagok és módszerek

5.1 A vizsgált *Aspergillus* fajok

A 18 *Aspergillus* törzs közül 9 gombatörzs genomszekvenciáját Prof. Dr. Ronald de Vries által koordinált (Westerdijk Biodiversity Institute, Utrecht, The Netherlands) „Comparative analysis of aspergilli to facilitate novel strategies in fungal biotechnology” nevezetű JGI-KNAW teljes genom szekvenálási és annotálási projekt keretein belül tárták fel.

Számos kiemelkedő tulajdonságuk miatt kutatott 17 *Aspergillus* faj (18 törzs, *Aspergillus niger* faj esetében két különböző törzs) oxidatív stresszválaszát vizsgáltuk.

Az alábbi *Aspergillus* törzsek stresszválaszát tanulmányoztuk:

- | | |
|--|---------------------------|
| 1. <i>Aspergillus aculeatus</i> | (CBS 172.66) |
| 2. <i>Aspergillus brasiliensis</i> | (CBS 101740) |
| 3. <i>Aspergillus carbonarius</i> | (CBS 141172 = DTO 115-B6) |
| 4. <i>Aspergillus clavatus</i> | (CBS 513.65 = NRRL1) |
| 5. <i>Aspergillus fisheri</i>
(<i>Neosartorya fisheri</i>) | (CBS 544.65) |
| 6. <i>Aspergillus flavus</i> | (CBS 128202 = NRRL 3357) |
| 7. <i>Aspergillus fumigatus</i> | (CBS 126847 = Af293) |
| 8. <i>Aspergillus glaucus</i>
(<i>Eurotium herbariorum</i>) | (CBS 516.65) |
| 9. <i>Aspergillus luchuensis</i> (<i>acidus</i>) | (CBS 106.47) |
| 10. <i>Aspergillus nidulans</i> | (FGSCA4) |
| 11. <i>Aspergillus niger</i> | (CBS 113.46) |
| 12. <i>Aspergillus niger</i> | (NCCB 402) |
| 13. <i>Aspergillus oryzae</i> | (Rib40) |
| 14. <i>Aspergillus sydowii</i> | (CBS 593.65) |
| 15. <i>Aspergillus terreus</i> | (NIH2624) |
| 16. <i>Aspergillus tubingensis</i> | (CBS 134.48) |
| 17. <i>Aspergillus versicolor</i> | (CBS 795.97) |
| 18. <i>Aspergillus wentii</i> | (CBS 141173 = DTO 134-E9) |

5.2 A vizsgált *Aspergillus nidulans* törzsek

Aspergillus nidulans THS 30.3 kontroll és TNJ 92.4 $\Delta atfA$ mutáns törzseinek oxidatív stresszre adott válaszát tanulmányoztuk.

TNJ 92.4 (*pyrG89*, *AfupyrG*⁺; *pyroA4*; $\Delta atfA::pyroA$; *veA*⁺)

THS 30.3 (*pyrG89*, *AfupyrG*⁺; *pyroA*⁺; *veA*⁺)

A TNJ 92.4 $\Delta atfA$ deléciós mutánst double-joint PCR (DJ-PCR) módszerrel Jae-Hyuk Yu és munkatársai hozták létre. A törzseket Prof. Dr. Jea-Hyuk Yu (University of Wisconsin, Madison, USA) bocsátotta rendelkezésünkre (Emri és mtsi, 2015).

5.3 A vizsgált *Aspergillus* gombatörzsek tenyésztése

A 18 gombatörzseket 25 °C hőmérsékletű inkubátorban 6 napon át sötétben spóráztattuk malátás táptalajon, majd a 6. napon a gombaspórákat a stressz kísérletekhez összegyűjtöttük. Az *Aspergillus glaucus* (CBS 516.65) gombatörzs tenyésztése 1,0 M NaCl-t tartalmazó malátás táptalajon történt (de Vries és mtsi, 2017).

5.4 A vizsgált *Aspergillus nidulans* TNJ 92.4 és THS 30.3 törzsekkel végzett oxidatív stressz kísérletek

A két *Aspergillus nidulans* törzset szilárd Barratt-féle minimál táptalajon tenyésztettük 37 °C-on, 6 napon keresztül. Ezt követően a kinőtt spórákat összegyűjtöttük, és 10⁵ számú friss spórát különböző stressz ágens koncentrációjú szilárd minimál tápközegre pont inokuláltunk. Az alkalmazott stressz ágensek és koncentrációik az alábbiak voltak:

*t*BOOH: 0,8 mM

H₂O₂: 6,0 mM

MSB: 0,12 mM

diamid: 2,0 mM

NaCl: 0,6 M

A felületi kultúrákat 37 °C-on, 5 napon át inkubáltuk, majd az 5. napon átmérőjüket lemérve stresszérzékenységüket jellemeztük (4 egymástól független kísérlet eredményei alapján).

Ezt követően a két *A. nidulans* törzset szintén szilárd halmazállapotú Barratt-féle nitrát minimál táptalajon 37 °C-on, 6 napon keresztül tenyésztettük. A 6. napon a spórákat lemostuk és 10^8 számban folyékony minimál tápközegebe oltottuk. A rázatás alatt 37 °C-os inkubációs hőmérsékletet, 3,7 Hz rázó frekvenciát és 20 órás időtartamot alkalmaztunk (Barratt és mtsi, 1965).

5.5 Alkalmazott táptalajok

Valamennyi 18 *Aspergillus* törzset az alábbi összetételű táptalajon tenyésztettük. A törzsek spóráztatásához malátás táptalajt alkalmaztunk, míg a stressz kísérletek alatt Barratt féle nitrát minimál táptalajt használtunk a gombatenyészetek növesztésére.

A minimál táptalaj az alábbi komponensekből állt:

10 g/l glükóz

5 v/v % 20xNSS oldat

0,1 v/v % nyomelem oldat

pH 6,5

Szilárd halmazállapotú minimál táptalaj létrehozásához 20 g/l agart adtunk a tápleveshez.

Malátás táptalaj összetétele:

30 g/l Malt extract

5 g/l mikológiai pepton

15 g/l agar

pH 6,0

A 20xNSS oldat összetétele az alábbi volt:

6 g/l NaNO_3

1,5 g/l KH_2PO_4

0,5 g/l $\text{MgSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

0,5 g/l KCl

A nyomelem oldat a következő alkotókból tevődött össze:

22 g/l $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

11 g/l H_3BO_3

5 g/l $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

5 g/l $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

1,6 g/l $\text{CoSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

1,6 g/l $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

1,1 g/l $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

50 g/l EDTA

Spóramosó folyadék

9 g/l NaCl

100 $\mu\text{l/l}$ Tween 80

5.6 A 17 *Aspergillus* faj oxidatív stressz toleranciájának vizsgálata

A stressz kísérletekben 37 °C-os inkubációs hőmérséklet mellett 5 napos inkubációs időt, míg 25 °C-os inkubációs hőmérsékleten 5 és 10 napos inkubációs időt alkalmaztunk.

A kiválasztott fajokat 10^5 számú spórával 5 μl térfogatban pontszerűen inokuláltuk a stressz ágenseket már tartalmazó nitrát minimál tápközegre.

A 17 *Aspergillus* faj közül az *A. glaucus* (CBS 516.65) és az *A. wentii* (DTO 134-E9) ozmofilitást mutattak NaCl és szorbit mellett. Ezért az *A. glaucus* esetében a különböző koncentrációban a stressz ágenseket már a szilárd táptalaj elkészítésénél hozzáadott 2,0 M szorbitot, 0,5 M és 1,0 M NaCl-t tartalmazó folyékony nitrát minimál táptalajhoz adtuk hozzá. Míg az

A. wentii gombatorzs stressz élettani vizsgálatát a minimál táptalajhoz adott 2,0 M koncentrációjú szorbit jelenlétében végeztük el.

Az oxidatív stressz ágensként a H₂O₂-t és MSB-t alkalmaztuk. A 18 *Aspergillus* törzs stresszérzékenységet stressztűrésüktől függően az alábbi stressz ágens koncentrációk mellett vizsgáltuk (de Vries és mtsi, 2017; Orosz és mtsi, 2018; <http://www.fung-stress.org/>):

<u>H₂O₂:</u>	<u>MSB:</u>
- 1.0 mM	- 0,024 mM
- 1,2 mM	- 0,048 mM
- 1,6 mM	- 0,096 mM
- 2,0 mM	- 0,12 mM
- 3,0 mM	- 0,14 mM
- 5,0 mM	- 0,19 mM
- 6,0 mM	- 0,24 mM
- 9,0 mM	- 0,29 mM
- 12,0 mM	- 0,33 mM
- 15,0 mM	- 0,38 mM
- 18,0 mM	- 0,46 mM
- 20,0 mM	- 0,48 mM
- 21,0 mM	- 0,49 mM
- 24,0 mM	- 0,62 mM
- 28,0 mM	- 0,77 mM
- 30,0 mM	- 0,92 mM
- 36,0 mM	- 1,06 mM
- 42,0 mM	- 1,20 mM
- 48,0 mM	

Az oxidatív stressz élettani kísérletek elvégzését követően a tenyészeteket lefénnyképeztük, illetve a gombák növekedését a tenyészetek átmérőjének lemérésével, illetve 0-10-es vizuális skála alapján is meghatároztuk. Miután a stressz ágens különböző koncentrációban tartalmazó táptalajon felnövekedett tenyészetek átmérőjének kontroll tenészethez való viszonyításával a növekedés pontos csökkenését is kiszámítottuk, a gombatorzsek stresszérzékenységet %-ban fejeztük ki.

Végül az élettani eredményeket a Fungal Stress Database (www.fungal-stress.org) adatbázisba gyűjtöttük össze (Orosz és mtsi, 2018).

5.7 Az *Aspergillus nidulans* gombatörzsekkel végzett oxidatív stresszérzékenység vizsgálata

A kísérletek előtt *Aspergillus nidulans* THS 30.3 kontroll és TNJ 92.4 *AtfA* mutáns törzset 6 napon át 37 °C-on inkubáltuk, majd a kísérletekhez 6. napon a felületi tenyészetekről lemosott konídiospórákat használtunk fel.

A rázott lombikos tenyészetek (100 ml) leoltását 100 millió spórával végeztük Bürker-kamrában történő spóraszámolást követően. A tenyészetek 16 órányi inkubálása (220 rpm, 37 °C-on) után stressz ágenseket a minimál tápoldathoz adtuk az alábbi koncentrációkban:

- 0,12 mmol/l MBS
- 0,8 mmol/l *t*BOOH
- 1,8 mmol/l diamid

A stresszorok hozzáadását követő 30. percben a tenyészetekből mintát vettünk, amelyeket DNS-chip és RT-qPCR vizsgálatokhoz használtunk fel. Majd 4 órával később ismét mintát gyűjtöttünk, melyet enzimaktivitás méréséhez, szterol tartalom meghatározásához és a stressz hatás következtében termelődött extracelluláris sziderofór mennyiségének meghatározásához használtunk fel.

5.8 Transzkripció vizsgálatok

5.8.1 RNS izolálás

Az *A. nidulans* kontroll (THS30.3) és *AtfA* (TNJ92.4) törzsek kezelt és kezeletlen tenyészeiteiből vett mintákat (5-15 ml) az RNS izolálásához zsugorított üvegszűrőn átszűrtük és a mosáshoz 0 °C hőmérsékletű vizet használtunk. A steril Eppendorf csöveket előhűtöttük, amelyekben -70 °C hőmérsékleten tároltuk a micéliumokat egészen a felhasználásig. Ezt

követően liofilizált micéliumokból TRIzol reagens hozzáadása után RNS-t izoláltunk Chomczynski szerint (Chomczynski, 1993).

A RNS minták egy részéből DNáz (Fermentas) kezelést követően RT-PCR méréseket végeztük. Spektrofotometriásan ($\lambda = 280/26 \text{ nm}$) meghatároztuk az RNS minták tisztaságát és koncentrációját. Végül az RNS minták és az RT-PCR termékek minőségét is ellenőriztük denaturáló agaróz gélelektroforézissel. Az agaróz gél a következő komponensekből állt:

10 g/l agaróz

10 % (v/v) 10x MOPS-EDTA oldat

0,002 % (v/v) etídium-bromid

(10 mg/ml) és 5 % (v/v) formaledhid

A gélek futtatása 80 V feszültség alkalmazásával 1x MOPS-EDTA oldatban történt.

Az agaróz gélelektroforézist megelőzően az RNS mintákat (7,5 μg) 5 μl 25 mmol/l etilén-diamin-tetraecsavat és 10 g/l nátrium-dodecil-szulfátot (SDS) tartalmazó oldat és 25 μl mintafelvívő puffer (RNA loading buffer, Invitrogen, Lofar, Ausztria) elegyében 68 °C hőmérsékleten 10 percen át inkubáltuk.

A 10 x MOPS-EDTA az alábbi összetevőkből áll:

200 mmol/l MOPS

50 mmol/l nátrium-acetát

10 mmol/l EDTA

pH 7,0

5.8.2 Microarray kísérletek és génexpressziós adatok kiértékelése

A 0,12 mM MSB-val, 0,8 mM tBOOH-val és 1,8 mM diamiddal kezelt és kezeletlen tenyészetek liofilizált micéliumaiból teljes RNS-t izoláltunk. A mintavétel a stresszkezelést követő 30. percben történt. Az RNS minták három egymástól független süllyesztett kultúras kísérletből származtak, amelyeket 1:1:1 arányban elegyítve használtunk fel a DNS-

chipes transzkriptom meghatározáshoz. A Kromat Kft (Budapest) végezte a DNS-chip elkészítését, hibridizációját és leolvasását is. A DNS- chip felületén géneket reprezentáló (Agilent szoftverrel megtervezett) oligomer próbák vannak a genom legfrissebb módosításait figyelembe véve (AspGD; <http://www.aspergillusgenome.org>). A 60 nukleotid hosszúságú oligomerek megtervezése Agilent eArray szoftverrel valósult meg (4x44 K; tervezési szám 0311400; Kromat Kft, Budapest). A hibridizációhoz felhasznált minták egyszínű fluoreszcens festékkel (cyanine-3; Cys3) jelölt cRNS (specifikus egyszálú DNS templátról transzkripcióval előállított szintetikus RNS) molekulák voltak, amelyek az „Agilent One-Color Microarray-Based Gene Expression Analysis protocol” alapján kerültek előkészítésre. A mintákat RNeasy mini spin oszlopokon (Qiagen) tisztították, minőségüket az Agilent Bioanalyzer 2100 készülékkel ellenőrizték, mennyiségüket pedig ND-1000 NanoDrop spektrofotométerrel határozták meg. Valamennyi blokkra 1650 ng mennyiségű cRNS-t hibridizáltak (17 h, 65 °C, 10 rpm; Agilent hibridizációval). Ezt követően a mintákat szobahőmérsékletű 1-es GE mosópufferrel (Agilent) és 37 °C hőmérsékletű 2-es GE mosópufferrel mosták le. A DNS-chip lemezek azonnal leolvasásra kerültek az Agilent DNA Microarray Scanner készülékkel (FE SW 11.1). Az adatok detektálása az Agilent MicroArray Extraction szoftver-el történt, az előnormalizálásukra Agilent Feature Extraction szoftver (11.1 verzió) szolgált. A teljes adatkészlet a GSE63019 leltári számmal ellátva és nyilvános funkcionális genomikai adattárba, a Gene Expression Omnibusba (GEO; <http://ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) kerültek elhelyezésre. Végül a transzkripció adatok közötti hasonlóság számítását Dr. Antal Károly (Eszterházy Károly Egyetem, Eger) végezte el.

Az up-regulálódott és down-regulálódott stresszválasz géneket 3-as küszöbértékkel ellátott D1 normalizációs számítással választottuk ki. A D1 teszt egy kétszer megismételt J5 teszt, ahol az elsőként feltárt jelentős gének eltávolításával a megmaradt géneket vizsgálták. A J5 teszt pedig egy gén-specifikus arány két géncsoportok expressziós intenzitásainak átlagos különbségei között (Jordan, 2008; Patel és Lyons-Weiler, 2004).

5.8.3 A transzkripciós adatok közötti hasonlóság számítása

A teljes transzkripciós profilok közötti párhuzamos hasonlóságokat a normalizált microarray adatok abszolút korrelációi alapján mértük, és foglaltuk össze az R 2.12.5. szoftver (R programozási nyelv és szoftverkörnyezet statisztikai számításokhoz) által végzett teljesen komplett összevonáson alapuló (agglomeratív) hierarchikus klaszterelemzéssel (Orosz et al. 2017).

5.8.4 Géndúsulási vizsgálatok

A microarray transzkriptom meghatározást követően géndúsulási vizsgálatokat végeztünk, hogy elemezzük az egyes géncsoportokhoz tartozó gének halmozódását.

Ehhez az AspGD Gene Ontology Term Finder (<http://www.aspergillusgenome.org/cgi-bin/GO/goTermFinder>) szoftverrel (az alapértelmezett beállítások alkalmazásával és megfelelő háttérgén használatával), biológiai folyamatokat feltáró gén ontológiát (GO terms) határoztunk meg. FungFun2 csomagot (<https://elbe.hki-jena.de/fungifun/fungifun.php>), az alapértelmezett háttér gén készletet szintén felhasználtuk a géndúsulási vizsgálatban a kiválasztott géncsoportok FunCat kategorizálásához (Priebe és mtsi, 2015). Csupán a 0.05-nél kisebb p-értékkel rendelkező egyezéseket vettük figyelembe a kiértékelési folyamatban. Továbbá az *Aspergillus* Genome Database-ből

(<http://www.aspergillusgenome.org>) nyert információk alapján hoztuk létre az egyedi szabályozású, koregulált és AtfA-függő gének, illetve funkcionálisan rokon gének csoportjait. A gének tulajdonságait a hozzájuk rendelt GO term-ek alapján jellemeztük, és azt néztük, hogy a bizonyos génekhez tartozó GO term-ek közül melyek szerepelnek gyakrabban a genom összes génjéhez rendelt GO term-ek gyakoriságához viszonyítva.

A géndúsulási vizsgálatokkal azt kerestük, hogy a különböző „GO term”-be tartozó gének nagyobb arányban vannak-e jelen adatkészletünkben, mint általában a genomban. Azokat a géneket, amelyek expressziója AtfA hiányában megváltozott, AtfA-függő génekként definiáltuk. Ezen belül alapvetően két géncsoportot különböztettünk meg. Egyrészt idesoroltuk azokat a géneket, amelyek kezeletlen körülmények között a *ΔatfA* mutáns törzsben eltérő expressziójúak voltak a kontroll törzsben leírtakhoz viszonyítva. Továbbá AtfA-függő géneknek tekintettük azokat a géneket, amelyek a kontroll törzsben stresszfüggést mutattak, amíg ez a jelenség a *ΔatfA* mutáns törzsben nem volt megfigyelhető.

-Az alábbi gén ontológiai csoportokat az **5. és 6. táblázatban** írtuk le, illetve használtuk fel a transzkriptomikai adatok kiértékeléséhez.

1. „Riboszóma biogenezis gének”
2. „Mitotikus sejtciklus” gének
3. Antioxidáns enzimeket kódoló gének. Ez a csoport ismert és feltételezetten antioxidáns enzimeket kódoló géneket foglal magába.
4. Sziderofór bioszintézisben résztvevő gének. Idetartozik valamennyi olyan gén, amelyek a „sziderofór bioszintézis”, a „sziderofór bioszintézis pozitív regulációja”, valamint „N’,N’’,N’’’-triacetilfuzarinin C bioszintézis” folyamatában fontos enzimeket kódolnak.

5. „Vas-kén klaszter összeszerelő” gének
6. „Két-komponensű szignáltranszdukciós rendszer” génjei
7. „Nitrát felhasználási” gének. Itt a „nitrát transzmembrán transzporter aktivitás”, „nitrát felvevő transzporter aktivitás”, „nitrát reduktáz (NADPH) aktivitás”, „nitrát asszimiláció” és „nitrát asszimilációt szabályozó” tulajdonságokkal jellemzett enzimeket kódoló géneket találjuk meg.
8. „ER-től Golgi készülékhez történő vezikulum transzport” gének
9. „Szkvalén-ergoszterol bioszintézis” útvonal génjei. Ez a csoport a szkvalénból ergoszterol bioszintézisét végző enzimeket kódoló *A. fumigatus* ortológ géneket tartalmaz.
10. „Szignál-transzdukciós” gének. Ez a csoport kizárólagosan olyan géneket tartalmaz, amelyek a „szignáltranszdukció” gén ontológiai csoportba („signal transduction” GO term) tartoznak.

5.8.5 Génexpresszió vizsgálata RT-qPCR módszerrel

Az MSB, tBOOH és diamid kezelés után nyert DNS-chip eredményeket RT-qPCR módszerrel validáltuk.

A mintákat a stressz kezelést követő 30. percben vettük. A 4 különböző párhuzamos kísérletből származó liofilizált micéliumokból teljes RNS izolálást végeztünk.

A mutáns törzs *ΔatfA* genotípusát minden kísérlet előtt RT-PCR kísérlettel erősítettük meg. Az RT-PCR reakciókat QuantiTect™ SYBR® Green RT-PCR kit felhasználásával (Qiagen, Hilden, Németország) végeztük, a gyártótól kapott protokoll alapján. Minden reakcióelegy 400 ng totál RNS-t, 2,5 mmol/l Mg^{2+} -t és 0,5 μmol/l *atfA* specifikus primert (5'–ACT ACT CCC CCC TGC CTT ATC–3' és 5'–GCC AGC AAA TCT TAG GTT AG–3') tartalmazott.

Az RT-PCR reakció ezeket a lépéseket tartalmazta:

- (1) reverz transzkripció, 50 °C, 30 perc
- (2) reverz transzkriptáz denaturáció, 95 °C, 15 perc
- (3) DNS denaturáció, 94 °C, 15 másodperc
- (4) primer hibridizáció (annálás), 53 °C, 30 másodperc
- (5) lánchosszabbítás (extenzió), 72 °C, 30 másodperc
- (6) a ciklus ismételése a harmadik lépéstől 40 ciklus erejéig.

Az alábbi primerpárokat használtuk fel RT-qPCR vizsgálatainkhoz:

1. AN6542 (*actA*)
Forward: 5'-GAAGTCCTACGAACTGCCTGATG-3'
Reverse: 5'-AAGAACGCTGGGCTGGAA-3' (51 °C)
2. AN7567 (funkciója nem jellemzett)
Forward: 5'-GCCTCATCTTGCCTCCATTC-3'
Reverse: 5'-CTTTGTCGCCTCACTGCC-3'
3. AN2846 (*gpxA*)
Forward: 5'-TTACCAGTCCATCAAAGCCAAG-3'
Reverse: 5'-TTCAGCCAAGTCCAAAGAGG-3'
4. AN0932 (*glrA*)
Forward: 5'-CCGTTCGTCTCTCGTCTGTTC-3'
Reverse: 5'-GTCATACTGTTTTGTCTCCACCG-3'
5. AN5831 (funkciója nem jellemzett)
Forward: 5'-CTGAGGGGTGAGATTGAGG-3'
Reverse: 5'-AAAGAGATACGGCTGGTGC-3'
6. AN3581 (*trxR*)
Forward: 5'-TGGCAGAACGGTATCAGCG-3'
Reverse: 5'-GCGGACAAGCACGGTAAC-3'
7. AN8692 (*prxA*)
Forward: 5'-CTGGACTGAGGAGAAGGG-3'
Reverse: 5'-CAAGGACGGCAACAACATCG-3'
8. AN10220 (*ccp1*)
Forward: 5'-GCGACCAAGAACCAAGACC-3'
Reverse: 5'-AACCAACAGGCGGAAAACTC-3'
9. AN0447 (funkciója nem jellemzett)
Forward: 5'-GACTTCCCTACCTCCTTCTTG-3'
Reverse: 5'-GCTCCACTCTTTTCCACGG-3'
10. AN10012 (funkciója nem jellemzett)
Forward: 5'-CTAACACAAGCGGATGAGCC-3'
Reverse: 5'-GGAACAACAAGACGGGAACC-3'
11. AN10584 (funkciója nem jellemzett)
Forward: 5'-GGTCTCTGTTTCGCTCTCTG-3'

Reverse: 5'-ACGGTTTGCCTCTTCATCATTC-3'

12. AN11060 (funkciója nem jellemzett)

Forward: 5'-CAAGTCGTCTCAGTCACCCTC-3'

Reverse: 5'-ATTCTCATCTCCACCATCGTC-3'

13. AN1407 (funkciója nem jellemzett)

Forward: 5'-CGACGCTCTCTCTGACTAC-3'

Reverse: 5'-CCTATGACTGTGGCTAAACTG-3'

14. AN2155 (funkciója nem jellemzett)

Forward: 5'-AGTCCACATTTTCGTCTGCTTCTC-3'

Reverse: 5'-TCACCCCAGTCCACATCTTTC-3'

15. AN2508 (funkciója nem jellemzett)

Forward: 5'-GGACCAAGGAACACGACC-3'

Reverse: 5'-CGCATCAGCCCCAATCAAG-3'

16. AN3632 (funkciója nem jellemzett)

Forward: 5'-GAGAATCCCTACGAAGTCACC-3'

Reverse: 5'-GCTGGCAACGAAAATCCGC-3'

17. AN4655 (funkciója nem jellemzett)

Forward: 5'-AGACTTTTGGCTGTGGCTCG-3'

Reverse: 5'-TTGATGGCGGCGGTAACG-3'

18. AN5953 (funkciója nem jellemzett)

Forward: 5'-CGTCCAGCAGTGTTCATCC-3'

Reverse: 5'-TCCATCGTCATCGGTCCTTG-3'

19. AN8485 (funkciója nem jellemzett)

Forward: 5'-CGACACAACCCCAGACTTC-3'

Reverse: 5'-AACAGCCGCATAGACCTC-3'

20. AN8251 (*hapX*)

Forward: 5'-CGAAATGGGATGGTGGCG-3'

Reverse: 5'-TCTTGACGAACGAGGCGG-3'

21. AN5823 (*sidA*)

Forward: 5'-GCTTCACCTTCCTCAACTAC-3'

Reverse: 5'-ACTTCAATCACCTCCTCTCC-3'

22. AN1800 (*tcsB*)

Forward: 5'-TCATACAATCCGCCTTACAGC-3'

Reverse: 5'-ATCCCAATCCTTCATCCCC-3'

23. AN2363 (*hk-8-6*)

Forward: 5'-GGAAGAAGCCTACAAACACCG-3'

Reverse: 5'-GCAATACGATAGCCGAACAGTC-3'

24. AN3101 (*phkB*)

Forward: 5'-TGGTGGCTTTTACGGATTGG-3'

Reverse: 5'-AGTTCTTTCAGGGTCGGC-3'

25. AN4113 (*hk-8-2*)
 Forward: 5'-TTCTCGCCAGCATCTTCGC-3'
 Reverse: 5'-AGCCGTAGTTCGTCGTCAG-3'
26. AN5296 (*tcsA*)
 Forward: 5'-GTTGAGCCGCATCTACCG-3'
 Reverse: 5'-CTATCTTTTCCCCGACCACG-3'
27. AN6820 (*hk-8-3*)
 Forward: 5'-AGGCTGATGGCTTATGGC-3'
 Reverse: 5'-CTGGATGGGCACGGAAAC-3'
28. AN7945 (*hk2*)
 Forward: 5'-CGATGTCACTTACGCCGC-3'
 Reverse: 5'-AAACCGCTCTTGCTGCTG-3'
29. AN1168 (*cch1*)
 Forward: 5'-CAATCCCCTTACAAGACCTTAC-3'
 Reverse: 5'-AACCCAGAGACTTCCAATCC-3'
30. AN1628 (*enaB*)
 Forward: 5'-TGTTGTCGGGTTCTTCCAGG-3'
 Reverse: 5'-AGGGCTTCATCGGTCTCG-3'
31. AN4920 (*pmcB*)
 Forward: 5'-CGGTTGTCTCTCTTTCTTTGGG-3'
 Reverse: 5'-GATGATTCGTCGCACTTGATTCC-3'
32. AN8842 (*mid1*)
 Forward: 5'-CATAAGAGCGATAGTGGTCAAAC-3'
 Reverse: 5'-TAACAGTAGTCAGAAGTGCCG-3'
33. AN9339 (*catB*)
 Forward: 5'-CCGAGCCCGACAACACTTAC-3'
 Reverse: 5'-G TTCAGCGACGACAATGACG-3'
34. AN1006 (*niaD*)
 Forward: 5'-TATGTCGTCCCAAAACCCG-3'
 Reverse: 5'-TTATTCTTCGTCCGCCTCC-3'
35. AN1007 (*niiA*)
 Forward: 5'-TCGTGATTGGAGAAGAGCC-3'
 Reverse: 5'-CGGGTATTGAGGTAGTAGTC-3'
36. AN1008 (*crnA*)
 Forward: 5'-CGCTTCTTCATCGGCATCC-3'
 Reverse: 5'-CATTTTCCAGTCGGGGTGTC-3'

A relatív transzkripció mértékét Δ módszerrel határoztuk meg:

$\Delta CP = CP_{\text{vizsgált gén}} - CP_{\text{referencia gén}}$, ahol ΔCP a relatív transzkripció mértékét jelenti, és CP a PCR termék akkumulálódásához szükséges ciklusszámot fejezi ki a gének és a referencia gén vizsgálatában.

Referenciaként az *actA* (AN6542) gént használtuk (Kovács és mtsi, 2013).

Az RT-qPCR kísérleteket a Debreceni Egyetem Genomi Medicina és Bioinformatikai Szolgáltató Laboratórium munkatársai végezték el.

5.9 Enzimaktivitás mérések

5.9.1 Glutation-peroxidáz, glutaton-reduktáz, kataláz, glükóz-6-foszfát-dehidrogenáz és nitrát-reduktáz enzimaktivitások mérése

A „rate assay” eljárás segítségével történt a mérés, miután a fagyasztott sejteket X-pressz készülékkel feltártuk. A sejtmentes mintákat centrifugáltuk (4 °C, 10 perc, 13000 G) majd a sejtmentes mintákból specifikus enzimaktivitásokat mértünk (Chiu és mtsi, 1976). A minták glutation-peroxidáz (GPx) (Chiu és mtsi 1976), glutation reduktáz (GR) (Pinto és mtsi, 1984), kataláz (Roggenkamp és mtsi, 1974), glükóz-6-foszfát dehidrogenáz (G6PD) (Emri és mtsi, 1994.), nitrát reduktáz (NR) (Bruinenberg és mtsi, 1983) aktivitását határoztuk meg (Orosz é mtsi, 2017).

Az enzimek reakcióelegyének végtérfogata 1 ml volt az alábbi összetevőkkel:

- Glutation-peroxidáz (GPx):

TRIS/HCl-EDTA (50 mM TRIS/HCl, 0,091 mM EDTA, pH 7,6) puffer, 1 mmol/l kumán-hidroperoxid, 1 mmol/l NADPH, 1 mmol/l redukált glutation, 440 U/l GR. Az enzimaktivitás kifejezésére használt enzimegység (U, „unit”, egység), az 1 perc alatt keletkezett 1 μ mol reakcióterméket jelenti. A GPx aktivitásának meghatározásakor 1U az az enzim mennyiség, amely 1 perc alatt 1 μ mol GSSG-t

redukál). A reakció színváltozását $\lambda=340$ nm-en 1 percig követtük nyomon (Chiu és mtsi 1976).

- Glutation-reduktáz (GR): 0,1 ml/l Na-foszfát pufferben (pH 7,6) 0,1 mmol/l NADPH, 1,5 mmol/l oxidált glutation (GSSG) és 10 v/v % minta. A NADPH fogyás sebességét szintén $\lambda=340$ nm-en detektáltuk fotometriásan (Pinto és mtsi, 1984).
- Kataláz: 20 mmol/l Hepes puffer (pH 7,6) 0,1 mmol/l H_2O_2 és 1 v/v % minta. A kataláz aktivitást a H_2O_2 mennyiségének csökkenésével mértük, amelyet 1 percig $\lambda=240$ nm-en figyeltük meg (Roggenkamp és mtsi, 1974).
- Glükóz-6-foszfát dehidrogenáz (G6PD): 20 mmol/l Hepes puffer (pH 7,6), 1 mmol/l NADP, 10/200 mmol/l $MgCl_2$, 1 mmol/l glükóz-6-foszfát. A reakcióelegy abszorbancia változását $\lambda=340$ nm-en 1 percen át mértük (Emri és mtsi, 1994).
- Nitrát-reduktáz (NR): 20 mmol/l Hepes puffer (pH 7,6), 0,1 mmol/l NADPH, 0,3 mmol/l $NaNO_3$ és 10 v/v % minta. A NADPH fogyás sebességének mérése $\lambda=340$ nm-en történt (Bruinenberg és mtsi, 1983).

A minták protein tartalmát Bradford reagenssel határoztuk meg (Bradford,1976.) A minták fehérjetartalmának megfelelően az enzimaktivitásokat mkat/kg-ban (kataláz esetében: kat/kg fehérje) fejeztük ki.

5.10 Az *Aspergillus nidulans* törzsek kezelt és kezeletlen tenyészetek szterin tartalom meghatározása

Az *A. nidulans* tenyészetek szterin tartalmát Dr. Gazdag Zoltán (Pécsi Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Általános és Környezeti Mikrobiológiai Tanszék) határozta meg (Orosz és mtsi, 2017).

Ehhez a stressz kezelés után 4 órával mintát vettünk a tenyészetekből. Majd a teljes szterin tartalom meghatározását liofilizált micéliummal végezték el Arthington-Skaggs és munkatársai által leírtak alapján (Arthington-Skaggs és mtsi, 1999.). Eszerint a mintákat 25 w/v %-os kálium-hidroxiddal (KHO) elszappanosították, majd 65 v/v % -os etanolban oldották őket 1 órán át 85 °C-on. Ezt követően a szterin tartalmat n-heptánnal vonták ki. Az n-heptán által megkötött szterin tartalmat spektrofotométerrel mérték ergoszterinnel készült standard görbe alapján.

5.11 Az *Aspergillus nidulans* törzsek kezelt és kezeletlen tenyészetek extracelluláris sziderofór termelés meghatározása

A gombatörzsek által termelt extracelluláris sziderofór tartalom meghatározását szintén liofilizálással előkészített mintákkal végeztük el Tóth és munkatársai által leírtak szerint fermentációs tápközegben vagy (10x-esen) koncentrált fermentációs tápközegben (Tóth és mtsi, 2009). A meghatározás standardizált HPLC módszerrel történt, amelyet Dr. Gyémánt Gyöngyi egyetemi docens és munkatársai végeztek el a Debreceni Egyetem Természettudományi és Technológiai Karának Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszékén (Tóth és mtsi, 2009).

A tenyészetek 5 ml mennyiségű mintáit üvegszűrőn szűrték, majd 1 g/l FeCl₃-dal pH 6,5 kémhatására állították. A vas-komplex sziderofórok HPLC elválasztása során 20 µl mintát injektáltak közvetlenül a fordított

fázisú oszlopra (Spherisorb ODS2, 250 4,6 mm, 5 μ m) 1ml/perc áramlási sebességű gradiens elúciót alkalmazva.

A lineáris gradiens lépései a következők voltak:

- 0. perc: víz/acetonitril = 94/6
- 10. perc: víz/acetonitril = 80/20
- 15. perc: víz/acetonitril = 75/25
- 16. perc: acetonitril = 100 %

A detektor hullámhossza $\lambda=435$ és $\lambda=220$ nm volt, referencia hullámhosszként $\lambda=580$ nm-t alkalmaztak. A sziderofór csúcsok azonosításához a HPLC koprogén és fuzarinin kalibrációs kitet (EMC microcollection GmbH, Tübingen, Németország) használták (Pócsi és mtsi, 2008). Végül a sziderofór mennyiségét abszorbancia koefficiens alkalmazásával számolták ki (Tóth és mtsi, 2009; Konetschny-Rapp, 1988).

5.12 Felhasznált vegyszerek

Kísérleteinkben a Sigma-Aldrich Kft. és a WVR Kft. analitikai tisztaságú termékeit használtuk fel.

6. Összefoglalás

Az *Aspergillus* fajok molekuláris biológiai, mezőgazdasági, ipari és orvosbiológiai jelentőségük miatt napjaink egyre inkább kutatott organizmusai közé tartoznak. Ennek következtében különböző stressz aktivált biológiai folyamataikat is igen széles körben tanulmányozzák (Dagenais és mtsi, 2009; Papagianni, 2007; Pel és mtsi, 2007; Sijmen és mtsi, 2007; Payne és mtsi 2006; Wortman és mtsi, 2006; Latgé, 2001; Oakley és mtsi, 1981).

A 17 *Aspergillus* faj oxidatív stresszválaszának kutatásához élettani elemzéseket végeztünk. Bioinformatikai módszerekkel de Vries és munkatársai megkeresték a kulcsfontosságú oxidatív stresszválasz fehérjék ortológjait. Ezeket az adatokat az élettani kísérletek eredményeivel összehasonlítottuk, hogy fény derüljön a különböző stressztűrések genetikai hátterére. Eredményeink alapján elmondható, hogy e fajok élettani tulajdonságai nagyon változatosak (de Vries és mtsi, 2017; Orosz és mtsi, 2018). Megfigyelésink közül az alábbiak a legfontosabbak:

- H_2O_2 által indukált oxidatív stresszben az *A. niger* (CBS 113.46 és NCCB 402), az *A. oryzae* (Rib40) és az *A. nidulans* (FGSCA4) fajok vizsgált törzsei voltak a legtoleránsabbak 37 °C-on 5 napig tartó inkubáció után (de Vries és mtsi, 2017, Orosz és mtsi, 2018).
- Ugyanakkor az *A. fumigatus* humán opportunistá patogén gomba volt a legérzékenyebb faj a H_2O_2 okozta stresszre 37 °C-on. Az összehasonlító genomikai vizsgálat eredményei alapján azt találtuk, hogy ennek hátterében a benne megtalálható, többi fajtól eltérő katalázok jelenléte/hiánya állhat. Ugyanis az *A. fumigatus*-nak a C-típusú kataláz fehérjék közül csupán cIII csoportbeli CatC enzime van, míg a többi *Aspergillus* fajtól eltérően a jól ismert cIV csoportba sorolt

CatC fehérje nem található meg benne (Dr. Miskei Márton munkája alapján, de Vries és mtsi, 2017; Orosz és mtsi, 2018).

- MSB stresszben az *A. brasiliensis* (CBS 101740) *A. wentii* (CBS 141173 = DTO 134-E9), *A. versicolor* (CBS 795.97) és az *A. aculeatus* (CBS 172.66) vizsgált törzsei bizonyultak a legtoleránsabbaknak 37 és 25 °C-on. Az összehasonlító genomikai vizsgálat eredményeként az *A. brasiliensis* genomjában két új típusú SodA fehérje ortológot tártak fel. Valószínűleg az *A. brasiliensis* ezen genetikai tulajdonsága révén képes hatékonyan védekezni az MSB stressz alatt létrejött szuperoxid gyökök ellen (Dr. Miskei Márton munkája alapján, de Vries és mtsi, 2017, Orosz és mtsi, 2018).

Az *Aspergillus* fajok oxidatív stresszválaszát tanulmányozva azt tapasztaltuk, hogy nagyon sokszínű gombacsoportról van szó. Mivel ezen gombafajok izolációs helyeiket tekintve szintén nagyon különböznek egymástól, lehetséges, hogy ennek következtében alakulhatott ki egymástól eltérő oxidatív stressztoleranciájuk is. A gombák evolúciójuk során folyamatosan adaptálódnak aktuális környezetükhöz, melynek következtében hatékony védekező rendszereket fejlesztenek ki a különböző stresszek leküzdésére.

Az *Aspergillus*ok oxidatív stresszválaszának megértéséhez, a továbbiakban az *A. nidulans* (FGSC A4) stresszválaszát vizsgáltuk részletesebben. Az *A. nidulans* egy jól ismert és jellemzett gombafaj, amelyről nagyszámú információ áll rendelkezésre a kutatók számára. Ezért modellorganizmusként hatékonyan felhasználható lehet a fonalas gombák oxidatív stresszválaszával kapcsolatos kutatásokban (Spörte, 2009; Sijmen és mtsi, 2007; Keller, 2005; Pócsi és mtsi, 2005; Sweeney és Dobson, 1998; Martinelli és Kinghorn, 1994; Oakley és mtsi, 1981).

Munkánk során *tBOOH*, *MSB* és *diamid* által kiváltott oxidatív stressz alatt az *A. nidulans* egy bZIP-típusú transzkripciós fehérjéjének, az AtfA-nak (AN2911) szabályozó szerepét tártuk fel (Orosz és mtsi, 2017; Emri és mtsi, 2015). Transzkriptomikai analízissel a különböző környezeti stresszválasz regulátor gének expressziójának AtfA-függését elemeztük. Funkciójuk alapján csoportosítottuk az AtfA-függő géneket (7. táblázat) (Orosz és mtsi, 2017).

- Fontos megemlítenem, hogy az antioxidáns gének mind a három különböző stressz kezelés alatt up-regulálódtak. Ez a jelenség egy általános oxidatív stresszválasznak is tekinthető. Viszont ezek a gének nem AtfA-függő módon up-regulálódtak. Aktivációjukat valószínűleg több transzkripciós faktor együttesen szabályozza.
- Az AtfA a „kétkomponensű szignáltranszdukciós rendszer” gének pozitív regulátora. Ezen gének AtfA-függő up-regulációja főleg *MSB* okozta oxidatív stressz alatt volt jelentős.
- Emellett glükóz szénforráson növekvő *A. nidulans* gombában a pentóz-foszfát útvonal génjei oxidatív stressz alatt nem up-regulálódtak. Ezért azt feltételezzük, hogy a pentóz-foszfát ciklus szabályozása nem a génexpresszió szintjén történik.
- A *tBOOH* indukálta stresszben a szterin bioszintézis gének down-regulációját és a sziderofór bioszintézis gének fokozott expresszióját írtuk le.
- Az AtfA fehérje kulcsfontosságú szerepet tölt be az *A. nidulans* oxidatív stressz alatti szekunder metabolit termelésében.

Az eredmények alapján egy modellt hoztunk létre az *A. nidulans*ban lévő AtfA fehérje oxidatív stresszválaszban betöltött szabályozó

funkciójának meghatározására. A modell az alábbi három hipotézist tartalmazza (Orosz és mtsi, 2017):

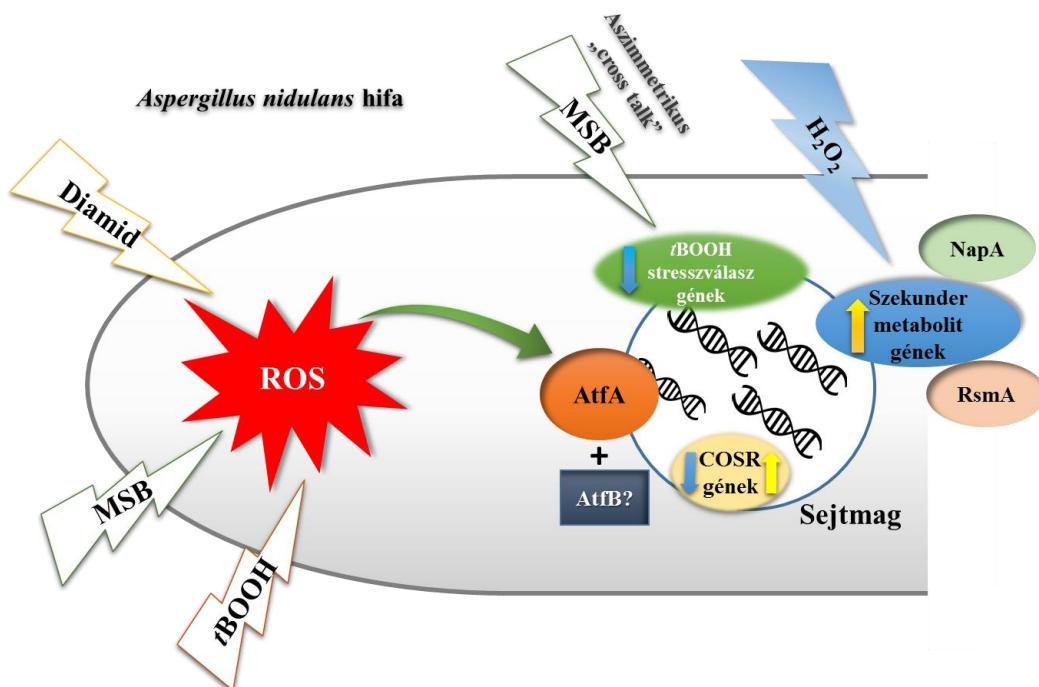
- 1. hipotézis:** Az AtfA fehérje közvetve vagy közvetlenül számos olyan gén szabályozásában vesz részt, amelyek fontos stresszválasz elemeket kódolnak. Ez a feltevés indokolhatja az *atfA* delécio különböző funkciójú génekre gyakorolt hatását.
- 2. hipotézis:** Az AtfA kölcsönhatásba lép más, fontos stressz szignál hálózati elemmel és/vagy transzkripciós szabályozó fehérjével.
- 3. hipotézis:** Az AtfA fehérje közvetve vagy közvetlenül gátolja bizonyos szignál transzdukciós hálózati elemek és/vagy egyéb transzkripciós faktorok aktivitását. Ugyanis AtfA hiányában a COSR gének száma jelentősen nem változott, viszont összetételükben kiemelkedő eltéréseket láttunk (**10. a, b és d ábra**).

Adataink és észrevételeink alapján megállapítottuk, hogy az AtfA nagyon fontos fehérje az *A. nidulans* oxidatív stresszválaszának szabályozásában. Az *A. nidulans*ban az élesztőtől eltérően nincs központi környezeti stresszválasz (CESR) (Emri és mtsi, 2015). Ebből kifolyólag is az AtfA nem tekinthető az *A. nidulans* gomba egyedüli oxidatív stresszválasz regulátorának, hanem feltehetően egy vagy több interakciós partner fehérjéje van.

Végeredményül elmondható, hogy az *A. nidulans* oxidatív stresszválasz szabályozását több jelátviteli mechanizmus és regulátor fehérje összehangolt működése végzi (Orosz és mtsi, 2017) (**13. ábra**).

Várhatóan a jövőben az *A. nidulans* modell fonalas gomba hatékonyan felhasználható lesz sok más gombákban végbemenő stresszt szabályozó folyamatok modellezéséhez és megértéséhez. Valószínűleg, mindez segíthet annak a kérdésnek a megválaszolásában, hogy a gombák

hogyan képesek gyorsan adaptálódni a folyamatosan változó környezethez, ezen belül új stresszválaszokat kifejleszteni. Ezen ismeretek birtokában a jövőben új és hatékonyabb gombaellenes védekező módszerek - mint például újfajta antifungális szerek-, továbbá új élelmiszeripari fermentációs technikák, vagy éppen szekunder metabolit túltermelő ipari törzsek.



13. ábra Az *Aspergillus nidulans* fonalas gombában lejátszódó oxidatív stresszválasz feltételezett modellje: A tBOOH, MSB, H₂O₂ és diamid indukálta oxidatív stresszben az AtfA transzkripció faktor számos változatos funkcióval rendelkező gén expresszióját szabályozza (sárga színnel jelzett nyíl: up-reguláció, kék színnel jelzett nyíl: down-reguláció). A gomba oxidatív stresszválasza során az AtfA közvetve vagy közvetlenül regulálni képes a COSR géneket. Az AtfA MSB stressz alatt gátolta a tBOOH-specifikus stresszválasz gének expresszióját, ún. aszimmetrikus „cross talk” részeként. Az AtfA transzkripció faktor *A. nidulans* oxidatív stresszválaszában más transzkripció faktorral vagy szabályozó elemmel léphet kölcsönhatásba. Továbbá az RsmA és NapA transzkripció faktorok mellett az AtfA fontos szabályozó szerepet játszik a gomba oxidatív stressz alatti szekunder metabolit termelésében, különösen a gének H₂O₂ stressz kiváltotta up-regulációja által.

7. Summary

The *Aspergillus* species, owing to their remarkable molecular biological, agricultural, industrial and biomedical importance, are among today's more and more studied microorganisms. As a consequence, their various stress-activated biological processes are also widely observed (Dagenais *et al.*, 2009; Papagianni, 2007; Pel *et al.*, 2007; Sijmen *et al.*, 2007; Wortman *et al.*, 2006; Payne *et al.*, 2006; Latgé, 2001; Oakley *et al.*, 1981).

To investigate the oxidative stress responses of 17 *Aspergillus* species stress physiological analysis was performed. The orthologs of the key oxidative stress response proteins have been identified with bioinformatics methods by de Vries *et al.* These data were collated with the results of the physiological experiments to shed light on the genetic background of the diverse stress tolerances. Based on our results, we can conclude that these species have very diverse physiological properties (de Vries *et al.*, 2017; Orosz *et al.*, 2018). Our most important results are as follows:

- Under H₂O₂ induced oxidative stress, the studied strains of *A. niger* (CBS 113.46 and NCCB 402), *A. oryzae* (Rib40) and *A. nidulans* (FGSCA4) were the most tolerant after incubation at 37 °C for 5 days (de Vries *et al.*, 2017; Orosz *et al.* 2018).
- At the same time, the human opportunistic pathogen *A. fumigatus* fungus was the most sensitive species in H₂O₂ induced oxidative stress at 37 °C. Based on the results of comparative genomic analyses we found that this observation could be coupled to the presence or absence of some catalases present in other *Aspergillus* species. While many *Aspergillus* species possess the representatives of the cIV-subtype of the C-type catalases, no cIV-subtype catalase was found in *A.*

fumigatus. In this species only one representative of the cIII-subtype of C-type catalases was identified (based on the work of Dr. Márton Miskei, de Vries *et al*, 2017; Orosz *et al.*, 2018).

- Under MSB stress, the studied strains of *A. brasiliensis* (CBS 101740) *A. wentii* (CBS 141173 = DTO 134-E9), *A. versicolor* (CBS 795.97) and *A. aculeatus* (CBS 172.66) were the most tolerant at both 37 and 25 °C. As a result of the comparative genomic analyses two new-type SodA orthologues were discovered in the genome of *A. brasiliensis*. Probably because of this genetic feature this fungus is able to cope effectively with superoxide radicals formed under MSB stress (based on the work of Dr. Márton Miskei, de Vries *et al*, 2017; Orosz *et al.*, 2018).

Studying oxidative stress responses of the tested *Aspergillus* species, we found that it is an outstandingly diverse group of fungi. Because these fungi occupy quite different habitats it is likely that they developed different oxidative stress tolerances. Fungi are constantly adapting to their current environment through their evolution, as a result of which effective stress defence systems are developed to overcome the various stresses.

To understand the oxidative stress responses of the aspergilli more deeply, we examined the stress response of the model organism *A. nidulans* (FGSC A4) in more details. This is a well-known and well-characterized species with a large amount of information available for the researchers. Therefore, it can be effectively used as a model organism for research in the oxidative stress responses of filamentous fungi (Spörte, 2009; Sijmen *et al.*, 2007; Keller, 2005; Pócsi és *et al.*, 2005; Sweeney and Dobson, 1998; Martinelli és Kinghorn, 1994; Oakley *et al.*, 1981).

In our work, we revealed the important regulatory role of the bZIP-type transcription factor AtfA (locus ID AN2911) of *A. nidulans* under *t*BOOH, MSB and diamid induced oxidative stress (Orosz *et al.*, 2017; Emri *et al.*, 2015). We investigated the AtfA-dependent expression of different stress response genes with transcriptomic methods. AtfA-dependent genes were categorized according to their functions (**Table 7.**) (Orosz *et al.*, 2017).

- It is important to note that oxidative stress defence genes were typically upregulated under all three stress treatments. This phenomenon could be considered as a general oxidative stress response, however, these genes were not upregulated in an AtfA-dependent manner. Their expression was likely controlled by various transcriptional factors jointly.
- AtfA is a positive regulator of the “two-component signal transduction system” genes. The AtfA-dependent upregulation of these genes was significant under MSB stress.
- In addition, in *A. nidulans* grown on glucose carbon source the pentose phosphate pathway was not activated after 30 minutes of treatment with oxidative stress agents. Therefore, we suppose that the pentose phosphate cycle was not regulated at the level of gene expression.
- The repression of the sterol biosynthesis genes and the increased expression of the Siderophore biosynthesis genes have been described in *t*BOOH induced stress.
- The AtfA protein played a key role in the regulation of secondary metabolite production in *A. nidulans* under oxidative stress.

Based on these results, a model was constructed for the determination of the regulatory function of the AtfA in the oxidative stress response of *A.*

nidulans. The model includes the following three hypotheses (Orosz *et al*, 2017):

Hypothesis 1. AtfA directly or indirectly takes part in the regulation of numerous genes encoding elements of stress response network. This assumption may justify the effects of *atfA* deletion on genes with versatile functions.

Hypothesis 2. AtfA interacts with other stress signalling elements and/or transcriptional regulatory proteins.

Hypothesis 3. AtfA directly or indirectly inhibits the activity of certain signal transduction network elements and/or other transcriptional factors. The number of COSR genes did not change significantly, but there were outstanding differences in their composition in the absence of AtfA (**Figure 10. a, b, and d**).

From these data and observations, we concluded that AtfA is a very important regulatory protein in the oxidative stress response of *A. nidulans*. Unlike in yeasts, there is no Core Environmental Stress Response (CESR) in *A. nidulans* (Emri *et al.*, 2015). Therefore, the AtfA also cannot be considered the only master regulator of oxidative stress response in this fungus but it is likely to have one or more interacting partners.

Finally, we can conclude that the regulation of oxidative stress response in *A. nidulans* is accomplished by the coordinated action of several signalling mechanisms and regulator proteins (Orosz *et al.*, 2017) (**Figure 13.**).

Probably in the future the *A. nidulans* model filamentous fungus can be effectively used to model and understand stress-control processes in many other fungi. Probably, this can also help us to answer the important question of how fungi can adapt quickly to continuously changing environment,

including the development of novel stress responses. Having this knowledge new and more effective antifungal defence methods – for example novel antifungal agents -, new food fermentation techniques, or even new secondary metabolite overproducing industrial strains can be developed in the future.

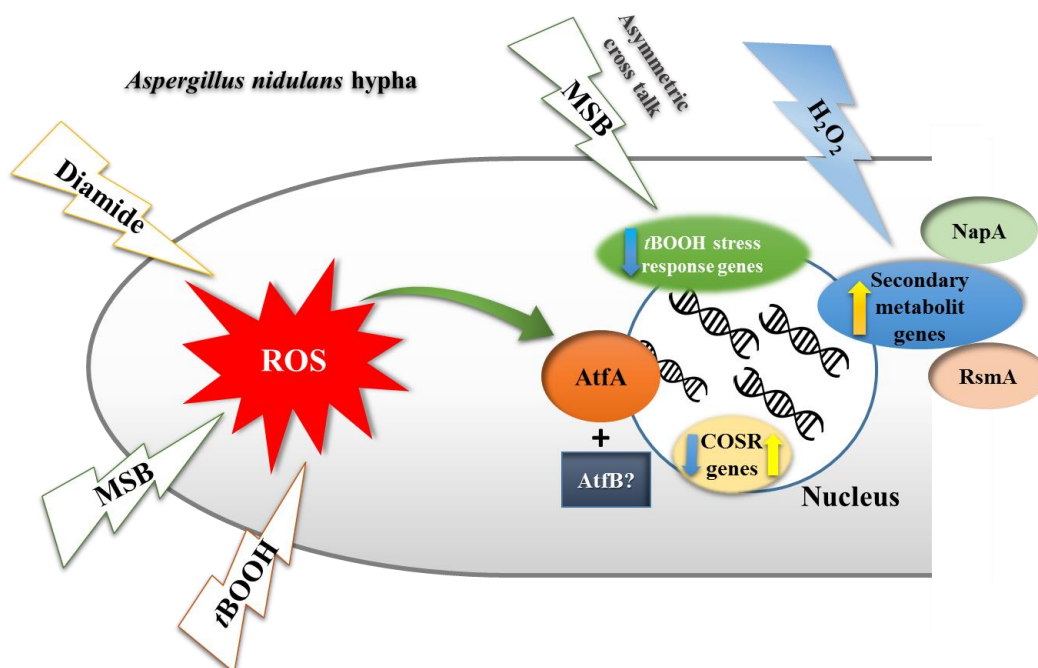


Figure 13. A hypothetical model of the regulation of oxidative stress response in the filamentous fungus *Aspergillus nidulans*: The AtfA transcription factor affects the expressions of a number of genes with diverse functions under tBOOH, MSB, H₂O₂ and diamide induced oxidative stress (yellow-colored arrow: upregulation, blue-colored arrow: downregulation). AtfA can directly or indirectly control COSR genes in the oxidative stress response of *A. nidulans*. AtfA inhibited the expression of tBOOH-specific genes under MSB stress as part of so-called asymmetric "cross talk". AtfA can interact with other transcription factor or regulatory element in the oxidative stress response of *A. nidulans*. Furthermore, besides the RsmA and NapA bZIP-type transcription factors, the AtfA also plays an important regulatory role in the secondary metabolite production of the fungus under oxidative stress, in particular, by the H₂O₂ stress induced upregulation of genes.

8. Köszönetnyilvánítás

Nagyon köszönöm témavezetőmnek, Dr. Pócsi István Professzor Úrnak, hogy lehetővé tette és szakmailag támogatta a doktori munkám elkészítését a Debreceni Egyetem Természettudományi Karának Biotechnológiai és Mikrobiológiai Tanszékén.

Hálasan köszönöm Dr. Emri Tamás egyetemi docensnek microarray és RT-qPCR kísérletek kivitelezésében és kiértékelésében nyújtott értékes és hasznos munkáját, továbbá szakmai tanácsait és önzetlen segítségét.

Köszönetemet szeretném kifejezni Prof. Dr. Ronald P. de Vries professzor úrnak (Westerdijk Fungal Biodiversity Institute and Fungal Molecular Physiology, Fungal Physiology Group, Utrecht University, The Netherlands), hogy kutatómunkám által bekapcsolódhattam a „Comparative analysis of Aspergilli to facilitate novel strategies in fungal biotechnology” nevezetű KNAW-JGI teljes genom szekvenálási és annotálási projektbe, továbbá, hogy lehetővé tette és támogatta, hogy kutatócsoportjában dolgozhassam. Mindez a Campus Hungary Pályázat féléves részképzésében valósulhatott meg számomra.

Köszönöm Dr. Miaomiao Zhou (Westerdijk Fungal Biodiversity Institute and Fungal Molecular Physiology, Fungal Physiology Group, Utrecht University, The Netherlands) bioinformatikus munkatársnak a Fungal Stress Database létrehozásában végzett munkáját és szakmai segítségét.

Köszönettel tartozom Dr. Vincent Robert és Nathalie van de Wiele (Westerdijk Fungal Biodiversity Institute and Fungal Molecular Physiology, Bioinformatics Group, Utrecht University, The Netherlands) kutatóknak a Fungal Stress Database szerkezetének felépítésében és megvalósításában nyújtott felbecsülhetetlen és áldozatos munkájukért.

Továbbá hálásan köszönöm Dr. Miskei Márton (Debreceni Egyetem, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet) *Aspergillus* fajokkal történő összehasonlító genomikai elemzését.

Köszönettel tartozom Prof. Dr. Jae-Hyuk Yu (Department of Bacteriology, University of Wisconsin, Madison, USA) professzor úrnak és munkatársainak, hogy az *Aspergillus nidulans* *Δatfa* törzset elkészítették és rendelkezésemre bocsátották.

Nagyon köszönöm Dr. Gazdag Zoltán (Pécsi Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Általános és Környezeti Mikrobiológiai Tanszék) egyetemi adjunktusnak, hogy az *A. nidulans* tenyészetek szterin tartalmának meghatározását elvégezte.

Köszönöm Dr. Antal Károly (Eszterházy Károly Főiskola, Biológia Intézet, Állattani Tanszék Eger) főiskolai docensnek, hogy elvégezte a transzkriptomikai vizsgálati eredmények hasonlósági számításait.

Nagyon köszönöm Tóth Gáborné laboratóriumi asszisztens *Aspergillus* gombafajokkal végzett élettani kísérletekben nyújtott áldozatos munkáját és segítségét.

Köszönöm Szabó Zsuzsa PhD hallgató transzkriptomikai elemzésben nyújtott segítségét.

Köszönetemet szeretném kifejezni Szarvas Vera Etelka, Kicska Livia (Biotechnológus MSc) Radócz Orsolya, Rákosi Annamária, Gazdag Annamária, Mohácsi Rebeka (Biológia BSc) és Ittes Enikő (Biomérnök BSc) szakdolgozóknak kitartó és lelkes munkájukért.

Hálásan köszönöm férjemnek, édesanyámnak, testvéreimnek, és barátaimnak, hogy doktori munkám során mindvégig kitartóan támogattak és bíztattak.

Kutatómunkám a NKFIH K100464, K112181 és K119494, valamint EFOP-3.6.1-16-2016-00022 pályázatok anyagi hozzájárulásával valósult meg, amelyet ezúton is nagyon köszönök.

9. Hivatkozások

- Abad, A., Fernández-Molina, J. V., Bikandi, J., Ramírez, A., Margareto, J., Sendino, J., Hernando, F. L., Pontón, J., Garaizar, J., Rementeria, A. (2010). What makes *Aspergillus fumigatus* a successful pathogen? Genes and molecules involved in invasive aspergillosis. *Revista iberoamericana de micologia*, 27(4), 155-182.
- Alarco, A.M.; Raymond, M. (1999) The bzip transcription factor Cap1p is involved in multidrugresistance and oxidative stress response in *Candida albicans*. *J. Bacteriol.*, 181, 700–708.
- Al-Bader, N., Vanier, G., Liu, H., Gravelat, F. N., Urb, M., Hoareau, C. M. Q., ... & Sheppard, D. C. (2010). Role of trehalose biosynthesis in *Aspergillus fumigatus* development, stress response, and virulence. *Infection and immunity*, 78(7), 3007-3018.
- Alker, A. P., Smith, G. W., & Kim, K. (2001). Characterization of *Aspergillus sydowii* (Thom et Church), a fungal pathogen of Caribbean sea fan corals. *Hydrobiologia*, 460(1-3), 105-111.
- Allocati, N., Federici, L., Masulli, M., & Di Ilio, C. (2009). Glutathione transferases in bacteria. *The FEBS journal*, 276(1), 58-75.
- Ameen, F., & Alshehrei, F. (2017). Biodegradation optimization and metabolite elucidation of Reactive Red 120 by four different *Aspergillus* species isolated from soil contaminated with industrial effluent. *Annals of Microbiology*, 67(4), 303-312.
- Angelova, M. B., Pashova, S. B., Spasova, B. K., Vassilev, S. V., & Slokoska, L. S. (2005). Oxidative stress response of filamentous fungi induced by hydrogen peroxide and paraquat. *Mycological research*, 109(2), 150-158.
- Arana, D. M., Nombela, C., Alonso-Monge, R., & Pla, J. (2005). The Pbs2 MAP kinase kinase is essential for the oxidative-stress response in the fungal pathogen *Candida albicans*. *Microbiology*, 151(4), 1033-1049.
- Arnaud, M. B., Cerqueira, G. C., Inglis, D. O., Skrzypek, M. S., Binkley, J., Chibucos, M. C., ... & Wymore, F. (2011). The *Aspergillus* Genome Database (AspGD): recent developments in comprehensive multispecies curation, comparative genomics and community resources. *Nucleic acids research*, 40(D1), D653-D659.
- Arthington-Skaggs, B. A., Jradi, H., Desai, T., & Morrison, C. J. (1999). Quantitation of ergosterol content: novel method for determination of fluconazole susceptibility of *Candida albicans*. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(10), 3332-3337.
- Asano, Y., Hagiwara, D., Yamashino, T., & Mizuno, T. (2007). Characterization of the bZip-type transcription factor NapA with reference to oxidative stress response in *Aspergillus nidulans*. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 71(7), 1800-1803.

- Bakti, F., Király, A., Orosz, E., Miskei, M., Emri, T., Leiter, É., & Pócsi, I. (2017). Study on the glutathione metabolism of the filamentous fungus *Aspergillus nidulans*. *Acta microbiologica et immunologica Hungarica*, 64(3), 255-272.
- Balázs, A., Pócsi, I., Hamari, Z., Leiter, É., Emri, T., Miskei, M., Oláh, J., Tóth, V., Hegedűs, N., Prade, R.A., Molnár, M. and Pócsi, I. (2010) AtfA BZIP-type transcription factor regulates oxidative and osmotic stress responses in *Aspergillus nidulans*. *Mol. Genet. Genom.* 283, 289-303.
- Barratt, R. W., Johnson, G. B., & Ogata, W. N. (1965). Wild-type and mutant stocks of *Aspergillus nidulans*. *Genetics*, 52(1), 233-246.
- Benoit, I., Malavazi, I., Goldman, G. H., Baker, S. E., & de Vries, R. P. (2013). *Aspergillus*: genomics of a cosmopolitan fungus. In *Genomics of soil-and plant-associated fungi* (pp. 89-126). Springer Berlin Heidelberg.
- Bertóti R., Vasas G., Gonda S., Nguyen N. M., Szőke É., Jakab Á., Pócsi I., Emri T.d (2016) Glutathione protects *Candida albicans* against horseradish volatile oil. *J Basic Microbiol.* Oct;56(10):1071-1079.
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*, 5(1), 9.
- Board, P. G., & Menon, D. (2013). Glutathione transferases, regulators of cellular metabolism and physiology. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1830(5), 3267-3288.
- Bradford M. M., (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Analytical Biochemistry*, vol. 2, pp. 248–25d.
- Brandon M., Howard B., Lawrence C., and Laubenbacher R., (2015) Iron acquisition and oxidative stress response in *Aspergillus fumigatus*, *BMC Systems Biology*, vol. 9, p. 19.
- Brauer M. J., Huttenhower C., Airoidi E. M., Rosenstein R., Matese J. C., Gresham D., Boer V. M., Troyanskaya O. G., Botstein D. (2008) Coordination of growth rate, cell cycle, stress response, and metabolic activity in yeast. *Mol Biol Cell*. 19:352–67.
- Brigelius-Flohé, R., & Maiorino, M. (2013). Glutathione peroxidases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1830(5), 3289-3303.
- Breitenbach, M., Weber, M., Rinnerthaler, M., Karl, T., & Breitenbach-Koller, L. (2015). Oxidative stress in fungi: its function in signal transduction, interaction with plant hosts, and lignocellulose degradation. *Biomolecules*, 5(2), 318-342.
- Brody H, Griffith J, Cuticchia AJ, Arnold J, Timberlake WE. Chromosome-specific recombinant DNA libraries from the fungus *Aspergillus nidulans*. *Nucleic Acids Res.* 1991 Jun 11;19(11):3105-9.
- Brown, G. D., Denning, D. W., Gow, N. A., Levitz, S. M., Netea, M. G., and White, T. C. (2012). Hidden killers: human fungal infections. *Sci. Transl. Med.* 4, 165rv13.

- Brown, A. J., Budge, S., Kaloriti, D., Tillmann, A., Jacobsen, M. D., Yin, Z., ... & Potrykus, J., Ene I. V., Bohovych I., Sandai D., Kastora S., Potrykus J., Ballou E. R., Childers D. S., Shahana S., Leach M. D. (2014). Stress adaptation in a pathogenic fungus. *Journal of Experimental Biology*, 217(1), 144-155.
- Bruinenberg P. M., J. P. Van Dijken P. M., and Scheffers W. A., (1983) An enzymatic analysis of NADPH production and consumption in *Candida utilis*, *Journal of General Microbiology*, vol. 129, pp. 965–97.
- Buettner, G. R., & Jurkiewicz, B. A. (1993). Ascorbate free radical as a marker of oxidative stress: an EPR study. *Free Radical Biology and Medicine*, 14(1), 49-55.
- Bui-Klimke, T. R., & Wu, F. (2015). Ochratoxin A and human health risk: A review of the evidence. *Critical reviews in food science and nutrition*, 55(13), 1860-1869.
- Cagas, S. E., Jain, M. R., Li, H., & Perlin, D. S. (2011). The proteomic signature of *Aspergillus fumigatus* during early development. *Molecular & Cellular Proteomics*, mcp-M111.
- Calvo A. M., Wilson R. A., Bok J. W., Keller N. P. (2002) Relationship between secondary metabolism and fungal development. *Microbiol Mol Biol Rev.* 66:447–59.
- Carmel-Harel, O. and Storz, G. (2000) Roles of the glutathione- and thioredoxindependent reduction systems in the *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae* responses to oxidative stress. *Annu. Rev. Microbiol.* 54, 439–461.
- Carberry, S., Molloy, E., Hammel, S., O’Keeffe, G., Jones, G. W., Kavanagh, K., & Doyle, S. (2012). Gliotoxin effects on fungal growth: mechanisms and exploitation. *Fungal genetics and biology*, 49(4), 302-312.
- Cary, J. W., Harris-Coward, P. Y., Ehrlich, K. C., Di Mavungu, J. D., Malysheva, S. V., De Saeger, S., ... & Calvo, A. M. (2014). Functional characterization of a veA-dependent polyketide synthase gene in *Aspergillus flavus* necessary for the synthesis of asparasone, a sclerotium-specific pigment. *Fungal Genetics and Biology*, 64, 25-35.
- Chang, Y. Y., Liu, H. C., Liu, N. Y., Hsu, F. C., and Ko, S. S. (2006). *Arabidopsis* Hsa32, a novel heat shock protein, is essential for acquired thermotolerance during long recovery after acclimation. *Plant Physiol.* 140, 1297–1305.
- Chauhan, E., Bali, A., Singh, N., & Jaggi, A. S. (2015). Cross stress adaptation: phenomenon of interactions between homotypic and heterotypic stressors. *Life sciences*, 137, 98-104.
- Chaves, G. M., Bates, S., Maccallum, D. M., & Odds, F. C. (2007). *Candida albicans* GRX2, encoding a putative glutaredoxin, is required for virulence in a murine model. *Genet Mol Res*, 6(4), 1051-1063.
- Chelikani P., Fitab I. and Loewena P. C., (2004) Diversity of structures and properties among catalases CMLS, *Cell. Mol. Life Sci.* 61, 192–208 1420-682X/04/020192-17.

- Chen D., Toone W. M., Mata J., Lyne R., Burns G., Kivinen K., Brazma A., Jones N., Bähler J. (2003) Global transcriptional responses of fission yeast to environmental stress. *Mol Biol Cell*. 14:214–29.
- Chinnusamy, V., Schumaker, K., and Zhu, J. K. (2004). Molecular genetic perspectives on cross-talk and specificity in abiotic stress signalling in plants. *J. Exp. Botany* 55, 225–236.
- Chiu D. T. Y., Stults F. H., and Tappel A. L., (1976) Purification and properties of rat lung soluble glutathione peroxidase, *Biochimica et Biophysica Acta*, vol. 445, pp. 558–566.
- Chomczynski, P. (1993). A reagent for the single-step simultaneous isolation of RNA, DNA and proteins from cell and tissue samples. *Biotechniques*, 15(3), 532-4.
- Circu L. M., Aw Y. T. (2010) Reactive oxygen species, cellular redox systems and apoptosis. *Free Radical Biology and Medicine* 48, 749-762.
- Culotta V. C., Yang M., O'Halloran T. V. (2006) Activation of superoxide dismutases: putting the metal to the pedal. *Biochim Biophys Acta* 1763(7): 747-758.
- Cyert, M. S. (2001). Regulation of nuclear localization during signaling. *Journal of Biological Chemistry*, 276(24), 20805-20808.
- da Silva Dantas, A., Patterson, M. J., Smith, D. A., MacCallum, D. M., Erwig, L. P., Morgan, B. A., & Quinn, J. (2010). Thioredoxin regulates multiple hydrogen peroxide-induced signaling pathways in *Candida albicans*. *Molecular and cellular biology*, 30(19), 4550-4563.
- Dagenais, T. R., & Keller, N. P. (2009). Pathogenesis of *Aspergillus fumigatus* in invasive aspergillosis. *Clinical microbiology reviews*, 22(3), 447-465.
- Dantas Ada S., Day A., Ikeh M., Kos I., Achan B., Quinn J. (2015) Oxidative stress responses in the human fungal pathogen, *Candida albicans*. *Biomolecules*. Feb 25;5(1):142-65.
- da Silva Dantas A., Patterson M. J., Smith D. A., Maccallum D. M., Erwig L. P., Morgan B. A., Quinn J. (2010) Thioredoxin regulates multiple hydrogen peroxide-induced signaling pathways in *Candida albicans*. *Mol. Cell. Biol.*, 30, 4550–4563.
- de Vries RP, Riley R, Wiebenga A, Aguilar-Orsorio G, Amillis S, Uchima CA, Anderluh G, Asadollahi M, Askin M, Barry K, Battaglia E, Bayram Ö, Benocci T, Braus-Stromeier SA, Caldana C, Cánovas D, Cerqueira GC, Chen F, Chen W, Choi C, Clum A, Dos Santos RA, Damásio AR, Diallinas G, Emri T, Fekete E, Flippin M, Freyberg S, Gallo A, Gournas C, Habgood R, Hainaut M, Harispe ML, Henrissat B, Hildén KS, Hope R, Hossain A, Karabika E, Karaffa L, Karányi Z, Kraševac N, Kuo A, Kusch H, LaButti K, Lagendijk EL, Lapidus A, Levasseur A, Lindquist E, Lipzen A, Logrieco AF, MacCabe A, Mäkelä MR, Malavazi I, Melin P, Meyer V, Mielnichuk N, Miskei M, Molnár ÁP, Mulé G, Ngan CY, Orejas M, Orosz E, Ouedraogo JP, Overkamp KM, Park HS, Perrone G, Piumi F, Punt PJ, Ram AF, Ramón A, Rauscher S, Record E, Riaño-Pachón DM, Robert V, Röhrig J, Ruller R, Salamov A, Salih

- NS, Samson RA, Sándor E, Sanguinetti M, Schütze T, Sepčić K, Shelest E, Sherlock G, Sophianopoulou V, Squina FM, Sun H, Susca A, Todd RB, Tsang A, Unkles SE, van de Wiele N, van Rossen-Uffink D, Oliveira JV, Vesth TC, Visser J, Yu JH, Zhou M, Andersen MR, Archer DB, Baker SE, Benoit I, Brakhage AA, Braus GH, Fischer R, Frisvad JC, Goldman GH, Houbraken J, Oakley B, Pócsi I, Scazzocchio C, Seiboth B, vanKuyk PA, Wortman J, Dyer PS, Grigoriev IV (2017). Comparative genomics reveals high biological diversity and specific adaptations in the industrially and medically important fungal genus *Aspergillus*. *Genome Biology* 18 (28), 1-45.
- Degols G, Shiozaki K, Russell P (1996) Activation and regulation of the Spc1 stressactivated protein kinase in *Schizosaccharomyces pombe*. *Mol Cel Biol* 16:2870.
- Degols G, Russell P (1997) Discrete roles of the Spc1 kinase and the Atf1 transcription factor in the UV response of *Schizosaccharomyces pombe*. *Mol Cel Biol* 17:3356.
- Durrant, W. E., and Dong, X. (2004). Systemic acquired resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42, 185–209.
- Dym O, Eisenberg D. Sequence-structure analysis of FAD-containing proteins. *Protein Sci.* 2001 Sep;10(9):1712-28.
- Emri, T., Szarvas, V., Orosz, E., Antal, K., Park, H., Han, K. H., Yu J. H., Pócsi, I. (2015). Core oxidative stress response in *Aspergillus nidulans*. *BMC genomics*, 16(1), 478.
- Emri T., Molnár Zs., Szilágyi M., Pócsi I. (2008) Regulation of autolysis in *Aspergillus nidulans*. *Applied biochemistry and biotechnology*, 151, 211-20.
- Emri T., Bartók G., and Szentirmai A., Regulation of specific activity of glucose-6-phosphate-dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase in *Penicillium chrysogenum*. *FEMS Microbiology Letters*, vol. 117, pp. 67–70, 1994.
- Emri T., Pócsi I., Szentirmai A. (1999) Analysis of the oxidative stress response of *Penicillium chrysogenum* to menadione. *Free Radic Res* 30(2): 125–132.
- Emri T., Pócsi I., Szentirmai A. (1997b) Glutathione metabolism and protection against oxidative stress caused by peroxides in *Penicillium chrysogenum*. *Free radical biology & medicine*. 23, 809-14.
- Enjalbert, B., Smith, D. A., Cornell, M. J., Alam, I., Nicholls, S., Brown, A. J., & Quinn, J. (2006). Role of the Hog1 stress-activated protein kinase in the global transcriptional response to stress in the fungal pathogen *Candida albicans*. *Molecular Biology of the Cell*, 17(2), 1018-1032.
- Enjalbert, B., Nantel, A., & Whiteway, M. (2003). Stress-induced gene expression in *Candida albicans*: absence of a general stress response. *Molecular biology of the cell*, 14(4), 1460-1467.
- Estruch, F., & Carlson, M. (1993). Two homologous zinc finger genes identified by multicopy suppression in a SNF1 protein kinase mutant of *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular and cellular biology*, 13(7), 3872-3881.

- Etxebeste O, Ugalde U, Espeso EA. (2010) Adaptive and developmental responses to stress in *Aspergillus nidulans*. *Curr Protein Pept Sci.* 11(8):704-18.
- Fahey, R. C., Newton, G. L., Arrick, B., Overdank-Bogart, T., & Aley, S. B. (1984). *Entamoeba histolytica*: a eukaryote without glutathione metabolism. *Science*, 224(4644), 70-72.
- Fahey, R.C. (2001) Novel thiols of prokaryotes. *Annu. Rev. Microbiol.* 55, 533–556.
- Fernandes, L., Rodrigues-Pousada, C., & Struhl, K. (1997). Yap, a novel family of eight bZIP proteins in *Saccharomyces cerevisiae* with distinct biological functions. *Molecular and cellular biology*, 17(12), 6982-6993.
- Fernandes A. P. and Holmgren A., (2004) Glutaredoxins: glutathione-dependent redox enzymes with functions far beyond a simple thioredoxin backup system, *Antioxidants and Redox Signaling*, vol. 6, pp. 63–74, 2004.
- Fernández, M. R., Biosca, J. A., Torres, D., Crosas, B., & Parés, X. (1999). A double residue substitution in the coenzyme-binding site accounts for the different kinetic properties between yeast and human formaldehyde dehydrogenases. *Journal of Biological Chemistry*, 274(53), 37869-37875.
- Fradin, C., de Groot, P., MacCallum, D., Schaller, M., Klis, F., Odds, F.C., Hube, B. (2005) Granulocytes govern the transcriptional response, morphology and proliferation of *Candida albicans* in human blood. *Mol. Microbiol.* 56, 397–415.
- Fradin, C. *et al.* Granulocytes govern the transcriptional response, morphology and proliferation of *Candida albicans* in human blood. *Mol. Microbiol.* 56, 397–415 (2005).
- Francis, F., Sabu, A., Nampoothiri, K. M., Ramachandran, S., Ghosh, S., Szakacs, G., & Pandey, A. (2003). Use of response surface methodology for optimizing process parameters for the production of α -amylase by *Aspergillus oryzae*. *Biochemical Engineering Journal*, 15(2), 107-115.
- Fridovich I. (1995) Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem.* 64:97
- Fukai T., Ushio-Fukai M. (2011) Superoxide dismutases: role in redox signaling, vascular function, and diseases. *Antioxid Redox Signal.* Sep 15;15(6):1583-606.
- Galagan JE, Calvo SE, Cuomo C, Ma LJ, Wortman JR, Batzoglou S, Lee SI, Bastürkmen M, Spevak CC, Clutterbuck J, Kapitonov V, Jurka J, Sczzocchio C, Farman M, Butler J, Purcell S, Harris S, Braus GH, Draht O, Busch S, D'Enfert C, Bouchier C, Goldman GH, Bell-Pedersen D, Griffiths-Jones S, Doonan JH, Yu J, Vienken K, Pain A, Freitag M, Selker EU, Archer DB, Peñalva MA, Oakley BR, Momany M, Tanaka T, Kumagai T, Asai K, Machida M, Nierman WC, Denning DW, Caddick M, Hynes M, Paoletti M, Fischer R, Miller B, Dyer P, Sachs MS, Osmani SA, Birren BW. (2005). Sequencing of *Aspergillus nidulans* and comparative analysis with *A. fumigatus* and *A. oryzae*. *Nature*, 438(7071), 1105.
- Gasch, A. P., Spellman, P. T., Kao, C. M., Carmel-Harel, O., Eisen, M. B., Storz, G., ... & Brown, P. O. (2000). Genomic expression programs in the response

- of yeast cells to environmental changes. *Molecular biology of the cell*, 11(12), 4241-4257.
- Gasch, A. P. (2003). The environmental stress response: a common yeast response to diverse environmental stresses. In *Yeast stress responses* (pp. 11-70). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Gasch, A. P. (2007). Comparative genomics of the environmental stress response in ascomycete fungi. *Yeast*, 24(11), 961-976.
- Gessler NN, Aver'yanov AA, Belozerskaya TA (2007) Reactive oxygen species in regulation of fungal development. *Biochemistry (Moscow)* 72, 1091-1109.
- Glade MJ. 2003. The role of reactive oxygen species in Health and Disease Northeast Regional Environmental Public Health Center University of Massachusetts, *Amerst Nutrition*, 19:401-3.
- Glade, M. J. (2003). BELLE Newsletter 2002; 10 (2): The role of reactive oxygen species in Health and Disease Northeast Regional Environmental Public Health Center University of Massachusetts, Amherst. *Nutrition*, 19(4), 401-403.
- Goetz KE, Coyle CM, Cheng JZ, O'Connor SE, Panaccione DG: Ergot cluster-encoded catalase is required for synthesis of chanoclavine-I in *Aspergillus fumigatus*. *Curr Genet* 2011, 57:201-211.
- Grant, C. M., Collinson, L. P., Roe, J. H., & Dawes, I. W. (1996). Yeast glutathione reductase is required for protection against oxidative stress and is a target gene for yAP-1 transcriptional regulation. *Molecular microbiology*, 21(1), 171-179.
- Guelfi A, Azevedo RA, Lea PJ, Molina SM: Growth inhibition of the filamentous fungus *Aspergillus nidulans* by cadmium: an antioxidant enzyme approach. *J Gen Appl Microbiol* 2003, 49:63-73.
- Gunjal, A. B., Kapadnis, B. P., & Pawar, N. J. (2017). Potential of Live Biomass of *Aspergillus* Spp. in Biosorption of Heavy Metals from Aqueous Solutions. *The Journal of Solid Waste Technology and Management*, 43(3), 216-225.
- Gyöngyösi, N., Nagy, D., Makara, K., Ella, K., and Ka' ldi, K. (2013). Reactive oxygen species can modulate circadian phase and period in *Neurospora crassa*. *Free Radic. Biol. Med.* 58, 134-143.
- Hagiwara, D., Takahashi H., Watanabe A., Takahashi-Nakaguchi A., Kawamoto S., Kamei K. and Gonoï T. (2014) Whole-genome comparison of *Aspergillus fumigatus* strains serially isolated from patients with aspergillosis. *J Clin Microbiol* 52(12): 4202-4209.
- Hagiwara, D., Suzuki S., Kamei K., Gonoï T. and Kawamoto S. (2014) The role of AtfA and HOG MAPK pathway in stress tolerance in conidia of *Aspergillus fumigatus*. *Fungal Genet Biol* 73: 138-149.
- Hagiwara, D., Takahashi, H., Kusuya, Y., Kawamoto, S., Kamei, K., & Gonoï, T. (2016). Comparative transcriptome analysis revealing dormant conidia and germination associated genes in *Aspergillus* species: an essential role for AtfA in conidial dormancy. *BMC genomics*, 17(1), 358.

- Hahn, G. M., Ning, S. C., Elizaga, M., Kapp, D. S., and Anderson, R. L. (1989). A comparison of thermal responses of human and rodent cells. *Int. J. Radiat. Biol.* 56, 817–825.
- Hall TA: BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl Acids Symp Ser* 1999, 41:95-98.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (1999): Free radicals in biology and medicine. *Oxford Science Publications*, Oxford.
- Han, K. H., Seo, J. A., & Yu, J. H. (2004). Regulators of G-protein signalling in *Aspergillus nidulans*: RgsA downregulates stress response and stimulates asexual sporulation through attenuation of GanB (Ga) signalling. *Molecular microbiology*, 53(2), 529-540.
- Hansberg, W., Salas-Lizana, R., & Domínguez, L. (2012). Fungal catalases: function, phylogenetic origin and structure. *Archives of biochemistry and biophysics*, 525(2), 170-180.
- He X. J., Mulford K. E., Fassler J. S. (2009) Oxidative stress function of the *Saccharomyces cerevisiae* Skn7 receiver domain. *Eukaryot Cell*. May;8(5):768-78.
- Hell, R. (1997) Molecular physiology of plant sulfur metabolism. *Planta* 202, 138–148.
- Hernández-Oñate MA., Esquivel-Naranjo, E.U., Mendoza-Mendoza, A., Stewart, A., and Herrera-Estrella, A.H. (2012). An injury-response mechanism conserved across kingdoms determines entry of the fungus *Trichoderma atroviride* into development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109, 14918–14923.
- Hisada H., Hata Y., Kawato A., Abe Y., Akita O. (2005) Cloning and expression analysis of two catalase genes from *Aspergillus oryzae*. *J Biosci Bioeng* 99(6): 562–568.
- Hoffmann B, Eckert SE, Krappmann S, Braus GH. Sexual diploids of *Aspergillus nidulans* do not form by random fusion of nuclei in the heterokaryon. *Genetics*. 2001 Jan;157(1):141-7.
- Hohmann, S. Osmotic stress signaling and osmoadaptation in yeasts. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 66,
- Hoi, J. W. S., Lamarre, C., Beau, R., Meneau, I., Berepiki, A., Barre, A., ... & Latgé, J. P. (2011). A novel family of dehydrin-like proteins is involved in stress response in the human fungal pathogen *Aspergillus fumigatus*. *Molecular biology of the cell*, 22(11), 1896-1906.
- Holdom, M. D., Lechenne, B., Hay, R. J., Hamilton, A. J., & Monod, M. (2000). Production and Characterization of Recombinant *Aspergillus fumigatus* Cu, Zn Superoxide Dismutase and Its Recognition by Immune Human Sera. *Journal of clinical microbiology*, 38(2), 558-562.
- Hong, S. Y., Roze, L. V., & Linz, J. E. (2013). Oxidative stress-related transcription factors in the regulation of secondary metabolism. *Toxins*, 5(4), 683-702.
- Hong, S. Y., Roze, L. V., Wee, J., & Linz, J. E. (2013). Evidence that a transcription factor regulatory network coordinates oxidative stress response and secondary metabolism in aspergilli. *Microbiologyopen*, 2(1), 144-160.

- Hoog JGI- The Joint Genome Institute (www.jgi.doe.gov).
- Houbraken, J., de Vries, R. P., & Samson, R. A. (2014). Modern taxonomy of biotechnologically important *Aspergillus* and *Penicillium* species. In *Advances in Applied Microbiology* (Vol. 86, pp. 199-249). Academic Press.
- Hwang, C. S.; Rhie, G. E.; Oh, J. H.; Huh, W. K.; Yim, H. S.; Kang, S. O. (2002) Copper- and zinc-containing superoxide dismutase (Cu/ZnSOD) is required for the protection of *Candida albicans* against oxidative stresses and the expression of its full virulence. *Microbiology*, *148*, 3705–3713.
- Hynes MJ (1973) The effect of lack of a carbon source on nitrate-reductase activity in *Aspergillus nidulans*. *J Gen Microbiol*. 1973 Nov;79(1):155-7.
- Inglis, D. O., Binkley, J., Skrzypek, M. S., Arnaud, M. B., Cerqueira, G. C., Shah, P., ... & Sherlock, G. (2013). Comprehensive annotation of secondary metabolite biosynthetic genes and gene clusters of *Aspergillus nidulans*, *A. fumigatus*, *A. niger* and *A. oryzae*. *BMC microbiology*, *13*(1), 91.
- Izawa, S., Inoue, Y., & Kimura, A. (1996). Importance of catalase in the adaptive response to hydrogen peroxide: analysis of acatalasaemic *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochemical Journal*, *320*(1), 61-67.
- Jaimes-Arroyo R., Lara-Rojas F., Bayram O., Valerius O., Braus G. H., and Aguirre J., (2015) The SrkA kinase is part of the SakA mitogen-activated protein kinase interactome and regulates stress responses and development in *Aspergillus nidulans*, *Eukaryotic Cell*, vol. 14, pp495–510.
- Jamieson DJ, Stephen DW, Terrière EC. Analysis of the adaptive oxidative stress response of *Candida albicans*. *FEMS Microbiol. Lett*. 1996, 138:83-88.
- Jain, C.; Pastor, K.; Gonzalez, A.Y.; Lorenz, M.C.; Rao, R.P. The role of *Candida albicans* AP-1protein against host derived ROS in *in vivo* models of infection. *Virulence* 2013, *4*, 67–76.
- Jakab Á., Emri T., Sipos L., Kiss Á., Kovács R., Dombrádi V., Kemény-Beke Á., Balla J., Majoros L., Pócsi I. (2015) Betamethasone augments the antifungal effect of menadione--towards a novel anti-*Candida albicans* combination therapy. *J Basic Microbiol*. Aug;55(8):973-81.
- Jakab Á., Antal K., Kiss Á., Emri T., Pócsi I. (2014) Increased oxidative stress tolerance results in general stress tolerance in *Candida albicans* independently of stress-elicited morphological transitions. *Folia Microbiol (Praha)*. 2014 Jul;59(4):333-40.
- Johnstone I. L., McCabe P. C., Greaves P., (1990) “Isolation and characterisation of the crnA-niiA-niaD gene cluster for nitrate assimilation in *Aspergillus nidulans*,” *Gene*, vol. 90, pp. 181–192.
- Jordan R., Patel S., Hu H., and Lyons-Weiler J., (2008) Efficiency analysis of competing tests for finding differentially expressed genes in lung adenocarcinoma, *Cancer Informatics*, vol. 6, pp. 389–421.
- Kafer, E., & Chae, S. K. (2008). uvsFRFC1, the large subunit of replication factor C in *Aspergillus nidulans*, is essential for DNA replication, functions in UV repair and is upregulated in response to MMS-induced DNA damage. *Fungal Genetics and Biology*, *45*(9), 1227-1234.

- Kanoh J., Watanabe Y., Ohsugi M., Iino Y., Yamamoto M. (1996) *Schizosaccharomyces pombe* gad7⁺ encodes a phosphoprotein with a bZIP domain, which is required for proper G1 arrest and gene expression under nitrogen starvation. *Genes Cells* 1:391.
- Karácsony, Z., Gácsér, A., Vágvölgyi, C., & Hamari, Z. (2015). Further characterization of the role of the mitochondrial high-mobility group box protein in the intracellular redox environment of *Aspergillus nidulans*. *Microbiology*, 161(10), 1897-1908.
- Karányi, Z., Holb, I., Hornok, L., Pócsi, I. and Miskei, M. (2013) FSRD: Fungal Stress Response Database. *Database*, bat037, accepted for publication.
- Kato TJ, Okazaki K, Murakami H, Stettler S, Fantes PA, Okayama H (1996) Stress signal, mediated by a Hog1-like MAP kinase, controls sexual development in fission yeast. *FEBS Lett* 378:207
- Kawasaki L, Aguirre J: Multiple catalase genes are differentially regulated in *Aspergillus nidulans*. *J Bacteriol* 2001, 183:1434-1440.
- Keller, N. P., Nesbitt, C., Sarr, B., Pjikkips, T.D., Burow, G. B. (1997) Ph regulation of sterigmatocystin and aflatoxin biosynthesis in *Aspergillus* spp. *Phytopathology* 87;643-648.
- Keller, N. P., Turner, G., Bennett, J. W. (2005) Fungal secondary metabolism –from biochemistry to genomics. *Nat Rev Microbio*, 3; 937-947.
- Kensler, T. W., Wakabayashi, N., and Biswal, S. (2007). Cell survival responses to environmental stresses via the Keap1-Nrf2-ARE pathway. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 47, 89–116.
- Klich, M. A. (2009). Health effects of *Aspergillus* in food and air. *Toxicology and Industrial Health*, 25(9-10), 657-667.
- Klotz M. G., Klassen G. R. and Loewen P. C. (1997) Phylogenetic relationships among prokaryotic and eukaryotic catalases. *Mol. Biol. Evol.* 14: 951–958.
- Koag, M. C., Fenton, R. D., Wilkens, S., & Close, T. J. (2003). The binding of maize DHN1 to lipid vesicles. Gain of structure and lipid specificity. *Plant physiology*, 131(1), 309-316.
- Kola AK, Mekala M, Goli VR. Jun. (2017) Experimental design data for the biosynthesis of citric acid using Central Composite Design method. *Data Brief*. 12:234-241.
- Komalapriya, C., Kaloriti, D., Tillmann, A. T., Yin, Z., Herrero-de-Dios, C., Jacobsen, M. D., ... & de Moura, A. P. (2015). Integrative model of oxidative stress adaptation in the fungal pathogen *Candida albicans*. *PLoS One*, 10(9), e0137750.
- Konetschny-Rapp, S., Huschka, H. G., Winkelmann, G., & Jung, G. (1988). High-performance liquid chromatography of siderophores from fungi. *Biology of metals*, 1(1), 9-17.
- Kozakiewicz, Z. 1995 *Aspergillus flavus*. *IMI Descriptions of Fungi and Bacteria*; 1251.

- Krems B, Charizanis C, Entian K-D (1996) The response regulator-like protein Pos9/Skn7 of *Saccharomyces cerevisiae* is involved in oxidative stress resistance. *Curr Genet* 29:327
- Krężel A, Maret W.(2017) The Functions of Metamorphic Metallothioneins in Zinc and Copper Metabolism. *Int J Mol Sci.* Jun 9;18(6). pii: E1237.
- Krumova E., Dolashki A., Pashova S., Dolashka-Angelova P., Stevanovic S., Hristova R., Stefanova L., Voelter W., Angelova M. (2008) Unusual location and characterization of Cu/Zn-containing superoxide dismutase from filamentous fungus *Humicola lutea*. *Arch Microbiol* 189(2): 121–130.
- Kuge, S., & Jones, N. (1994). YAP1 dependent activation of TRX2 is essential for the response of *Saccharomyces cerevisiae* to oxidative stress by hydroperoxides. *The EMBO journal*, 13(3), 655.
- Kuramae, E. E., Robert, V., Snel, B., & Boekhout, T. (2006). Conflicting phylogenetic position of *Schizosaccharomyces pombe*. *Genomics*, 88(4), 387-393.
- Lafon, A., Han, K. H., Seo, J. A., Yu, J. H., & d'Enfert, C. (2006). G-protein and cAMP-mediated signaling in aspergilli: a genomic perspective. *Fungal Genetics and Biology*, 43(7), 490-502.
- Lambou, K., Lamarre, C., Beau, R., Dufour, N., & Latgé, J. P. (2010). Functional analysis of the superoxide dismutase family in *Aspergillus fumigatus*. *Molecular microbiology*, 75(4), 910-923.
- Lara-Rojas, F., Sánchez, O., Kawasaki, L., Aguirre, J., 2011. *Aspergillus nidulans* transcription factor AtfA interacts with the MAPK SakA to regulate general stress responses, development and spore functions. *Mol. Microbiol.* 80, 436–454.
- Latgé J. P. (1999) *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis. *Clin Microbiol Rev.* 1999 Apr12(2):310-50.
- Latgé, J. P. (2001). The pathobiology of *Aspergillus fumigatus*. *Trends in microbiology*, 9(8), 382-389.
- Laun, P., A. Pichova, F. Madeo, J. Fuchs, A. Ellinger, S. Kohlwein, I. Dawes, K.U. Fröhlich, and M. Breitenbach. 2001. Aged mother cells of *Saccharomyces cerevisiae* show markers of oxidative stress and apoptosis. *Mol. Microbiol.* 39:1166–1173.
- Lee J, Kwon ES, Kim DW, Cha J, Roe JH (2002) Regulation and the role of Cu,Zn-containing superoxide dismutase in cell cycle progression of *Schizosaccharomyces pombe*. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 297, 854-862.
- Leiter, É., González, A., Erdei, É., Casado, C., Kovács, L., Ádám, C., Oláh, J., Miskei, M., Molnár, M., Farkas, I., Hamari, Z., Ariño, J., Pócsi, I. and Dombrádi, V. (2012) Protein phosphatase Z modulates oxidative stress response in fungi. *Fungal Genet. Biol.* 49, 708-716.
- Li L., Jiang Z., Shao C. (2017) Pulmonary *Aspergillus* Overlap Syndromes. *Mycopathologia*. doi: 10.1007/s11046-017-0212-y.

- Li Q., Harvey L. M., McNeil B. (2009) Oxidative stress in industrial fungi. *Crit Rev Biotechnol.* 29(3):199-213.
- Lopaczynski W, Zeisel SH. (2001). Antioxidants, programmed cell death, and cancer. *Nutr Res*, 21:295–307.
- Ludovico, P., F. Rodrigues, A. Almeida, M.T. Silva, A. Barrientos, and M. Corte-Real. 2002. Cytochrome *c* release and mitochondria involvement in programmed cell death induced by acetic acid in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Biol. Cell.* 13:2598–2606.
- Lushchak, V. I. (2010). Oxidative stress in yeast. *Biochemistry (Moscow)*, 75(3), 281-296.
- Lushchak, V. I. (2011). Adaptive response to oxidative stress: bacteria, fungi, plants and animals. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 153(2), 175-190.
- Madeo F., Fröhlich E., Ligr M., Grey M., Sigrist S. J., Wolf D. H., Fröhlich K. U. (1999) Oxygen stress: a regulator of apoptosis in yeast. *J Cell Biol.* 1999 May 17;145(4):757-67.
- Madeo, F., E. Herker, C. Maldener, S. Wissing, S. Lächelt, M. Herlan, M. Fehr, K. Lauber, S.J. Sigrist, S. Wesselborg, and K.U. Fröhlich. (2002) A caspase-related protease regulates apoptosis in yeast. *Mol. Cell.* 9:911–917.
- Machida M., Asai K., Sano M., Tanaka T., Kumagai T., Terai G., Kusumoto K. I., Toshihide Arima, Akita O., Kashiwagi Y., Abe K., Gomi K., Horiuchi H., Kitamoto K., Kobayashi T., Takeuchi M., Denning D. W., Galagan J. E., Nierman W. C., Jiujiang Yu J., Archer D. sB., Bennett J. W., Bhatnagar D., Cleveland T. E., Fedorova N. D., Gotoh O., Horikawa H., Hosoyama A., Ichinomiya M., Igarashi R., Iwashita K., Juvvadi P. R., Kato M., Kato Y., Kin T., Kokubun A., Maeda H., Maeyama N., Maruyama J., Nagasaki H., Nakajima T., Oda K., Okada K., Paulsen I., Sakamoto K., Sawano T., Takahashi M., Takase K., Terabayashi Y., Wortman J. R., Yamada O., Yamagata Y., Anazawa H., Hata Y., Koide Y., Komori T., Koyama Y., Minetoki T., Suharnan S., Tanaka A., Isono K., Kuhara S., Ogasawara N, & Kikuchi H. (2005) Genome sequencing and analysis of *Aspergillus oryzae*. *Nature* (438), 1157-1161.
- Martchenko M., Alarco A.M., Harcus D., Whiteway M. (2004) Superoxide dismutases in *Candida albicans*: Transcriptional regulation and functional characterization of the hyphal-induced *SOD5* gene. *Mol. Biol. Cell* 15, 456–467.
- Martinelli S. D., Kinghorn J. R. (1994) *Aspergillus*: 50 years on. Elsevier ISBN 0-444-81762-X.
- Martinez-Pastor, M. T., Marchler, G., Schüller, C., Marchler-Bauer, A., Ruis, H., & Estruch, F. (1996). The *Saccharomyces cerevisiae* zinc finger proteins Msn2p and Msn4p are required for transcriptional induction through the stress response element (STRE). *The EMBO journal*, 15(9), 2227.

- Matsumoto, H., Hamada, N., Takahashi, A., Kobayashi, Y., and Ohnishi, T. (2007). Vanguard of paradigm shift in radiation biology: radiation-induced adaptive and bystander responses. *J. Radiat. Res.* 48, 97–106.
- Mazzoni, C., P. Mancini, L. Verdone, F. Madeo, A. Serafini, E. Herker, and C. Falcone. (2003) A truncated form of KILSm4p and the absence of factors involved in mRNA decapping trigger apoptosis in yeast. *Mol. Biol. Cell.* 14:721–729.
- Mayordomo, I., Estruch, F., & Sanz, P. (2002). Convergence of the target of rapamycin and the Snf1 protein kinase pathways in the regulation of the subcellular localization of Msn2, a transcriptional activator of STRE (Stress Response Element)-regulated genes. *Journal of Biological Chemistry*, 277(38), 35650-35656.
- Meister, A., & Anderson, M. E. (1983). Glutathione. *Annual review of biochemistry*, 52(1), 711-760.
- Meyer C., Lea U. S., Provan F., Kaiser W. M., and Lillo C., (2005) Is nitrate reductase a major player in the plant NO (nitric oxide) game? *Photosynthesis Research*, vol. 83, pp. 181–189.
- Meyer V, *et al.* (2009) Reconstruction of signaling networks regulating fungal morphogenesis by transcriptomics. *Eukaryot Cell* 8(11):1677-9.
- Michán, S., Lledías, F., Baldwin, J. D., Natvig, D. O., & Hansberg, W. (2002). Regulation and oxidation of two large monofunctional catalases. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(4), 521-532.
- Michán, S., Lledías, F., & Hansberg, W. (2003). Asexual development is increased in *Neurospora crassa* cat-3-null mutant strains. *Eukaryotic cell*, 2(4), 798-808.
- Millar, J. B. (1999). Stress-activated MAP kinase (mitogen-activated protein kinase) pathways of budding and fission yeasts. In *Biochemical Society symposium* (Vol. 64, pp. 49-62).
- Millar, J. B., Buck, V., & Wilkinson, M. G. (1995). Pyp1 and Pyp2 PTPases dephosphorylate an osmosensing MAP kinase controlling cell size at division in fission yeast. *Genes & Development*, 9(17), 2117-2130.
- Ming, J. Wu, Patrick, J. O'Doherty, Patricia A. Murphy, Victoria Lyons, Melinda Christophersen, Peter J. Rogers, Trevor D. Bailey 1 and Vincent J. Higgins, (2011) Different Reactive Oxygen Species Lead to Distinct Changes of Cellular Metal Ions in the Eukaryotic Model Organism *Saccharomyces cerevisiae*. *Int.J. Mol.Sci.* 12, 8119-8132
- Miskei, M., Karányi, Z. and Pócsi, I. (2009) Annotation of stress-response proteins in the aspergilli. *Fungal Genet. Biol.* 46, S105-S120.
- Montibus, M., Pinson-Gadais, L., Richard-Forget, F., Barreau, C., & Ponts, N. (2015). Coupling of transcriptional response to oxidative stress and secondary metabolism regulation in filamentous fungi. *Critical reviews in microbiology*, 41(3), 295-308.

- Montañés, F. M., Pascual-Ahuir, A., & Proft, M. (2011). Repression of ergosterol biosynthesis is essential for stress resistance and is mediated by the Hog1 MAP kinase and the Mot3 and Rox1 transcription factors. *Molecular microbiology*, 79(4), 1008-1023.
- Morano, K. A., Grant, C. M., & Moye-Rowley, W. S. (2012). The response to heat shock and oxidative stress in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*, 190(4), 1157-1195.
- Morgan, B. A., Banks, G. R., Toone, W. M., Raitt, D., Kuge, S., & Johnston, L. H. (1997). The Skn7 response regulator controls gene expression in the oxidative stress response of the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *The EMBO Journal*, 16(5), 1035-1044.
- Motter FA, *et al.* (2014) Categorisation of sugar acid dehydratases in *Aspergillus niger*. *Fungal Genet Biol* 64:67-72.
- Moye-Rowley, S. Regulation of the transcriptional response to oxidative stress in fungi: similarities and differences. *Euk. Cell* 2, 381–389 (2003).
- Mulford, K. E., & Fassler, J. S. (2011). Association of the Skn7 and Yap1 transcription factors in the *Saccharomyces cerevisiae* oxidative stress response. *Eukaryotic cell*, 10(6), 761-769.
- Mustacich, D., & Powis, G. (2000). Thioredoxin reductase. *Biochemical Journal*, 346(1), 1-8.
- Nagahashi, S., *et al.* Isolation of *CaSLN1* and *CaNIK1*, the genes for osmosensing histidine kinase homologues, from the pathogenic fungus, *Candida albicans*. *Microbiology* 144, 425–432 (1998).
- Nakagawa C. W., Yamada K., and Mutoh N., (2000) Role of Atf1 and Pap1 in the induction of the catalase gene of fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*, *Journal of Biochemistry*, vol. 127, pp. 233–238.
- Navarro-García, F., Eisman, B., Fiuza, S. M., Nombela, C., & Pla, J. (2005). The MAP kinase Mkc1p is activated under different stress conditions in *Candida albicans*. *Microbiology*, 151(8), 2737-2749.
- Nayak, T., Szewczyk, E., Oakley, C. E., Osmani, A., Ukil, L., Murray, S. L., Hynes, M. J., Osmani, S. A., Oakley, B. R. (2006) A versatile and efficient gene-targeting system for *Aspergillus nidulans*. *Genetics*. Mar;172(3):1557-66. Epub 2005 Dec 30.
- Nedeva, T. S., Petrova, V. Y., Zamfirova, D. R., Stephanova, E. V., & Kujumdzieva, A. V. (2004). Cu/Zn superoxide dismutase in yeast mitochondria—a general phenomenon. *FEMS microbiology letters*, 230(1), 19-25.
- Nikolaou, E., Agrafioti, I., Stumpf, M., Quinn, J., Stansfield, I., & Brown, A. J. (2009). Phylogenetic diversity of stress signalling pathways in fungi. *BMC Evolutionary Biology*, 9(1), 44.
- Oakley, B. R., Morris, N. R. (1981) A beta tubulin mutation in *Aspergillus nidulans* that blocks microtubule function without blocking assembly. *Cell* 24 (3), 837-845.

- Oberegger, H., Zadra, I., Schoeser, M., & Haas, H. (2000). Iron starvation leads to increased expression of Cu/Zn-superoxide dismutase in *Aspergillus*. *FEBS letters*, 485(2-3), 113-116.
- Oberegger, H., Schoeser, M., Zadra, I., Abt, B., & Haas, H. (2001). SREA is involved in regulation of siderophore biosynthesis, utilization and uptake in *Aspergillus nidulans*. *Molecular microbiology*, 41(5), 1077-1089.
- O'Brien, K. M., Dirmeier, R., Engle, M., & Poyton, R. O. (2004). Mitochondrial Protein Oxidation in Yeast Mutants Lacking Manganese-(MnSOD) or Copper-and Zinc-containing Superoxide Dismutase (CuZnSOD) EVIDENCE THAT MnSOD AND CuZnSOD HAVE BOTH UNIQUE AND OVERLAPPING FUNCTIONS IN PROTECTING MITOCHONDRIAL PROTEINS FROM OXIDATIVE DAMAGE. *Journal of Biological Chemistry*, 279(50), 51817-51827.
- Oliver PT. (1972) Conidiophore and spore development in *Aspergillus nidulans*. *J Gen Microbiol*.73(1):45-54.
- Orosz, E., van de Wiele, N., Emri, T., Zhou, M., Robert, V., de Vries, R.P. and Pócsi, I. (2018) Fungal Stress Database (FSD) – a repository of fungal stress physiological data. *Database*. 2018: bay009
- Orosz, E., Antal, K., Gazdag, Z., Szabó, Z., Han, K. H., Yu, J. H., Pócsi I., Emri, T. (2017). Transcriptome-Based Modeling Reveals that Oxidative Stress Induces Modulation of the AtfA-Dependent Signaling Networks in *Aspergillus nidulans*. *International journal of genomics*, 2017:6923849.
- Papagianni, M. (2007). Advances in citric acid fermentation by *Aspergillus niger*: biochemical aspects, membrane transport and modeling. *Biotechnology advances*, 25(3), 244-263.
- Park, H. S., Jun, S. C., Han, K. H., Hong, S. B., Yu, J. H. (2017) Diversity, Application, and Synthetic Biology of Industrially Important *Aspergillus* Fungi. *Adv Appl Microbiol*. 100:161-202.
- Paris S., Wyssong D., Debeaupuis J. P., Shibuya K., Philippe B., Diamond R. D., Latgé J. P. (2003) Catalases of *Aspergillus fumigatus*. *Infect Immun*. 71:3551–62.
- Patel S. and Lyons-Weiler J., (2004) “caGEDA: a web application for the integrated analysis of global gene expression patterns in cancer,” *Applied Bioinformatics*, vol. 3, pp. 49–62.
- Patterson, M.J.; McKenzie, C.G.; Smith, D.A.; da Silva Dantas, A.; Sherston, S.; Veal, E.A.; Morgan, B.A.; MacCallum, D.M.; Erwig, L.P.; Quinn, J. (2013) Ybp1 and Gpx3 signaling in *Candida albicans* govern hydrogen peroxide-induced oxidation of the Cap1 transcription factor and macrophage escape. *Antioxid. Redox Signal.*, 19, 2244–2260.
- Payne, G. A., Nierman, W. C., Wortman, J. R., Pritchard, B. L., Brown, D., Dean, R. A., ... & Yu, J. (2006). Whole genome comparison of *Aspergillus flavus* and *A. oryzae*. *Medical Mycology*, 44(Supplement_1), S9-S11.
- Pel, H. J., de Winde, J. H., Archer, D. B., Dyer, P. S., Hofmann, G., Schaap, P. J., ... & Andersen, M. R. (2007). Genome sequencing and analysis of the versatile

- cell factory *Aspergillus niger* CBS 513.88. *Nature biotechnology*, 25(2), 221-231.
- Peraza L, Hansberg W. (2002) *Neurospora crassa* catalases, singlet oxygen and cell differentiation. *Biol Chem* 383(3-4): 569–575.
- Perrone, G., Susca, A., Cozzi, G., Ehrlich, K., Varga, J., Frisvad, J. C., ... & Samson, R. A. (2007). Biodiversity of *Aspergillus* species in some important agricultural products. *Studies in mycology*, 59, 53-66.
- Peterson C. W., Narula S. S., Armitage I. M. (1996) 3D solution structure of copper and silver-substituted yeast metallothioneins. *FEBS Lett.* 1996 Jan 22;379(1):85-93.
- Pereira Silva, L., Alves de Castro, P., Reis, T. F., Paziani, M. H., Von Zeska Kress, M. R., Riaño-Pachón, D. M., ... & Goldman, G. H. (2017). Genome-wide transcriptome analysis of *Aspergillus fumigatus* exposed to osmotic stress reveals regulators of osmotic and cell wall stresses that are SakAHOG1 and MpkC dependent. *Cellular microbiology*, 19(4).
- Perrone, G., Susca, A., Cozzi, G., Ehrlich, K., Varga, J., Frisvad, J. C., ... & Samson, R. A. (2007). Biodiversity of *Aspergillus* species in some important agricultural products. *Studies in mycology*, 59, 53-66.
- Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International journal of biomedical science: IJBS*, 4(2), 89.
- Pinto, M. C., Mata A. M., and Lopezbarea J., “Reversible inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* glutathione-reductase under reducing conditions,” *Archives of Biochemistry and Biophysics*, vol. 228, pp. 1–12, 1984.
- Poli G, Leonarduzzi G, Biasi F, et al. 2004. Oxidative stress and cell signaling. *Curr Med Chem*, 11:1163–82.
- Ponts, N., Pinson-Gadais, L., Barreau, C., Richard-Forget, F., & Ouellet, T. (2007). Exogenous H₂O₂ and catalase treatments interfere with Tri genes expression in liquid cultures of *Fusarium graminearum*. *FEBS letters*, 581(3), 443-447.
- Pócsi, I., Prade, R. A., Penninckx, M. J. (2004) Glutathione, altruistic metabolite in fungi. *Adv Microb Physiol.* 2004;49:1-76.
- Pócsi, I., Miskei, M., Karányi, Z., Emri, T., Ayoubi, P., Pusztahelyi, T., Balla, G. (2005) Comparison of gene expression signatures of diamide, H₂O₂ and menadione exposed *Aspergillus nidulans* cultures-linking genome-wide transcriptional changes to cellular physiology. *BMC Genomics* 6, 182.
- Pócsi, I., Jeney, V., Kertai, P., Pócsi, I., Emri, T., Gyémánt, G., ... & Balla, G. (2008). Fungal siderophores function as protective agents of LDL oxidation and are promising anti-atherosclerotic metabolites in functional food. *Molecular nutrition & food research*, 52(12), 1434-1447.
- Priebe, S., Kreisel, C., Horn, F., Guthke, R., and Linde, J., (2015) Fungi- Fun2: a comprehensive online resource for systematic analysis of gene lists from fungal species. *Bioinformatics*, vol. 31, pp. 445-446.

- Purschwitz, J., Müller, S., Kastner, C., Schöser, M., Haas, H., Espeso, E. A., ... & Fischer, R. (2008). Functional and physical interaction of blue-and red-light sensors in *Aspergillus nidulans*. *Current Biology*, 18(4), 255-259.
- Pusztahelyi, T., Klement, É., Szajli, E. et al., (2011) Comparison of transcriptional and translational changes caused by longterm menadione exposure in *Aspergillus nidulans*. *Fungal Genetics and Biology*, vol. 48, pp. 92–103, 2011.
- Raper, K.B.; Fennell, D.I. 1965, The Genus *Aspergillus*. 1-686 (328).
- Ray, P. D., Huang, B. W., & Tsuji, Y. (2012). Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cellular signalling*, 24(5), 981-990.
- Reinke, A. W., J. Baek, Ashenberg, O., and Keating, A. E., (2013) Networks of bZIP protein-protein interactions diversified over a billion years of evolution, *Science*, vol. 340, pp. 730–734.
- Reijula, K., Tuomi, T. (2003) Mycotoxins of aspergilli: exposure and health effects. *Front Biosci.* 1;8:s232-5.
- Reverberi, M., Zjalic, S., Ricelli, A., Punelli, F., Camera, E., Fabbri, C., ... & Fabbri, A. A. (2008). Modulation of antioxidant defense in *Aspergillus parasiticus* is involved in aflatoxin biosynthesis: a role for the ApyapA gene. *Eukaryotic cell*, 7(6), 988-1000.
- Reverberi, M., Ricelli, A., Zjalic, S., Fabbri, A. A., & Fanelli, C. (2010). Natural functions of mycotoxins and control of their biosynthesis in fungi. *Applied microbiology and biotechnology*, 87(3), 899-911.
- Rinnerthaler, M., Büttner, S., Laun, P., Heeren, G., Felder, T. K., Klinger, H., ... & Benada, O. (2012). Yno1p/Aim14p, a NADPH-oxidase ortholog, controls extramitochondrial reactive oxygen species generation, apoptosis, and actin cable formation in yeast. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(22), 8658-8663.
- Rodríguez-Urra, A. B., Jiménez, C., Nieto M. I., Rodríguez, J., Hayashi H., Ugalde U. (2012) Signaling the induction of sporulation involves the interaction of two secondary metabolites in *Aspergillus nidulans*. *ACS Chem Biol.* 7:599–606.
- Roetzer, A., Gregori, C., Jennings, A. M., Quintin J., Ferrandon, D., Butler, G., Kuchler, K., Ammerer, G., Schüller, C. (2008) *Candida glabrata* environmental stress response involves *Saccharomyces cerevisiae* Msn2/4 orthologous transcription factors. *Mol Microbiol.* 69:603–20.
- Roggenkamp, R., Sahm, H., and Wagner, F., (1974) Microbial assimilation of methanol induction and function of catalase in *Candida boidinii*, *FEBS Letters*, vol. 41, pp. 283–286.
- Rokas, A., Payne, G., Fedorova, N. D., Baker, S. E., Machida, M., Yu, J., ... & Wortman, J. R. (2007). What can comparative genomics tell us about species concepts in the genus *Aspergillus*?. *Studies in mycology*, 59, 11-17.

- Roze, L. V., Chanda, A., Wee, J., Awad, D., Linz, J. E. (2011) Stress-related transcription factor AtfB integrates secondary metabolism with oxidative stress response in aspergilli. *J Biol Chem.* 2011; 286:35137–48.
- Ruis, H., Hamilton, B. (1992) Regulation of yeast catalase genes. *Molecular Biology of Free Radical Scavenging System*:153.
- Rydholm, C., Szakacs, G., Lutzoni, F. (2006) Low genetic variation and no detectable population structure in *aspergillus fumigatus* compared to closely related *Neosartorya* species. *Eukaryot Cell.* Apr;5(4):650-7.
- Sakamoto, K., Arima, T.-H., Iwashita, K., Yamada, O., Gomi, K., Akita, O., (2008) *Aspergillus oryzae* atfB encodes a transcription factor required for stress tolerance in conidia. *Fungal Genet. Biol.* 45, 922–932.
- Sakamoto, K., Iwashita, K., Yamada, O., Kobayashi, K., Mizuno, A., Akita, O., Mikami, S., Shimoi, H., Gomi, K., 2009. *Aspergillus oryzae* atfA controls conidial germination and stress tolerance. *Fungal Genet. Biol.* 46, 887–897.
- Samson, R. A., Hoekstra, E. S., & Frisvad, J. C. (2004). *Introduction to food-and airborne fungi* (No. Ed. 7). Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS).
- Samson, R. A., Visagie, C. M., Houbraken, J., Hong, S. B., Hubka, V., Klaassen, C. H., ... & Varga, J. (2014). Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Studies in mycology*, 78, 141-173.
- Sanso, M., Gool, M., Ayte, J., Seidel, C., and Hidalgo, E., (2008) Transcription factors Pcr1 and Atf1 have distinct roles in stressand Sty1-dependent gene regulation, *Eukaryotic Cell*, vol. 7, pp. 826–835.
- Sato, I., *et al.* (2009) The glutathione system of *Aspergillus nidulans* involves a fungus-specific glutathione S-transferase. *J Biol Chem* 284(12):8042-53.
- Scazzocchio, C. (2009). *Aspergillus*, a multifacted genus In: Schaechter M, editor. *Encyclopaedia of Microbiology*.
- Scharf, D. H., Heinekamp, T., Remme, N., Hortschansky, P., Brakhage, A. A., & Hertweck, C. (2012). Biosynthesis and function of gliotoxin in *Aspergillus fumigatus*. *Applied microbiology and biotechnology*, 93(2), 467-472.
- Schliebs, W., Wurtz, C., Kunau, W. H., Veenhuis, M., Rottensteiner, H. 2006. A eukaryote without catalase-containing microbodies: *Neurospora crassa* exhibits a unique cellular distribution of its four catalases. *Eukaryot Cell* 5(9): 1490–1502.
- Schmeisser, S., Schmeisser, K., Weimer, S., Groth, M., Priebe, S., Fazius, E., Kuhlow, D., Pick, D., Einax, J. W., Guthke, R., Platzer, M., Zarse, K., Ristow, M. (2013) Mitochondrial Hormesis Links Low-Dose Arsenite Exposure to Lifespan Extension. *Aging Cell* 10.1111/accel.12076.
- Selye, H., (1950) Stress and the general stress adaptation syndrome *Br Med J.* Jun 17; 1(4667): 1383–1392.
- Sheehan, D., Meade, G., Foley, V. M., Dowd, C. A. (2001) Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. *Biochem J.* Nov 15;360(Pt 1):1-16.

- Shieh, J-C, Wilkinson, M. G, Buck, V, Morgan, B. A, Makino, K., Millar, J.B.A. (1997) The Mcs4 response regulator coordinately controls the stress-activated Wak1-Wis-1-Sty1 MAP kinase pathway and fission yeast cell cycle. *Genes Dev* 11:1008.
- Shimizu, K., Keller, N. P. (2001) Genetic involvement of a cAMP-dependent protein kinase in a G-protein signaling pathway regulating morphological and chemical transitions in *Aspergillus nidulans*. *Genetics* 157; 591-600.
- Shiozaki, K, Russell P (1995) Cell cycle control linked to the extracellular environment by MAP kinase pathway in fission yeast. *Nature* 378:739
- Shiozaki, K., & Russell, P. (1996). Conjugation, meiosis, and the osmotic stress response are regulated by Spc1 kinase through Atf1 transcription factor in fission yeast. *Genes & development*, 10(18), 2276-2288.
- Sijmen, E. S., Alfons, J. M. D., Marijke, S., Rolf, F. H. (2007) Mitotic Recombination Accelerates Adaptation in the Fungus *Aspergillus nidulans*. *PLoS Genetics* 3 (4), e68.
- Singh, U., Devaraj S., Jialal I. (2005) Vitamin E, oxidative stress, and inflammation. *Annu Rev Nutr.* 25:151-74.
- Slavov, N., Airoidi, E. M., van Oudenaarden, A., & Botstein, D. (2012). A conserved cell growth cycle can account for the environmental stress responses of divergent eukaryotes. *Molecular Biology of the Cell*, 23(10), 1986-1997.
- Sims, A. H., Robson, G. D., Hoyle. D. C, Oliver, S. G, Turner, G., Prade, R . A, Russell, H. H., Dunn-Coleman, N. S., Gent, M. E. Use of expressed sequence tag analysis and cDNA microarrays of the filamentous fungus *Aspergillus nidulans*. (2004) *Fungal Genet Biol.* 41(2):199-212.
- Smith, D. A., Nicholls, S., Morgan, B. A., Brown, A. J., & Quinn, J. (2004). A conserved stress-activated protein kinase regulates a core stress response in the human pathogen *Candida albicans*. *Molecular biology of the cell*, 15(9), 4179-4190.
- Spitzmüller, Z., Kwon, N. J., Szilágyi, M., Keserű, J., Tóth, V., Yu, J. H., ... & Emri, T. (2015). γ -Glutamyl transpeptidase (GgtA) of *Aspergillus nidulans* is not necessary for bulk degradation of glutathione. *Archives of microbiology*, 197(2), 285-297.
- Spröte, P., Brakhage, A. A., & Hynes, M. J. (2009). Contribution of peroxisomes to penicillin biosynthesis in *Aspergillus nidulans*. *Eukaryotic cell*, 8(3), 421-423.
- Staerck, C., Gastebois, A., Vandeputte, P., Calenda, A., Larcher, G., Gillmann, L., Papon, N., Bouchara, J. P., Fleury, M. J. J. (2017) Microbial antioxidant defense enzymes. *Microb Pathog.* 110:56-65.
- Stephen, D. W., Rivers, S. L., & Jamieson, D. J. (1995). The role of the YAP1 and YAP2 genes in the regulation of the adaptive oxidative stress responses of *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular microbiology*, 16(3), 415-423.
- Sturtz, L. A., Diekert, K., Jensen, L. T., Lill, R., & Culotta, V. C. (2001). A fraction of yeast cu, zn-superoxide dismutase and its metallochaperone, ccs, localize to the intermembrane space of mitochondria a physiological role for sod1 in

- guarding against mitochondrial oxidative damage. *Journal of Biological Chemistry*, 276(41), 38084-38089.
- Subramaniam, R., & Rampitsch, C. (2013). Towards systems biology of mycotoxin regulation. *Toxins*, 5(4), 675-682.
- Sweeney, M. J., & Dobson, A. D. (1998). Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. *International journal of food microbiology*, 43(3), 141-158.
- Tamari, Y., Nawata, H., Inoue, E., Yoshimura, A., Yoshii, H., Kashino, G., Seki, M., Enomoto, T., Watanabe, M., Tano, K. (2013) Protective roles of ascorbic acid in oxidative stress induced by depletion of superoxide dismutase in vertebrate cells. *Free Radic Res.* Jan;47(1):1-7.
- Takasuka, T., Sayers, N. M., Anderson, M. J., Benbow, E. W., Denning, D. W. (1999) *Aspergillus fumigatus* catalases: cloning of an *Aspergillus nidulans* catalase B homologue and evidence for at least three catalases. *FEMS Immunol Med Microbiol* 23(2): 125–133.
- Takeda, T., Toda, T., Kominami, K., Kohnosu, A., Yanagida, M., Jones, N. (1995) *Schizosaccharomyces pombe* atf1+ encodes a transcription factor required for sexual development and entry into stationary phase. *EMBO J* 14:6193.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S. (2011) MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol*, 28:2731-2739.
- Tan, S. X., Teo, M., Lam, Y. T., Dawes, I. W., and Perrone, G. G., (2009) Cu, Zn superoxide dismutase and NADP(H) homeostasis are required for tolerance of endoplasmic reticulum stress in *Saccharomyces cerevisiae*, *Molecular Biology of the Cell*, vol. 20, pp. 1493–1508.
- Taylor, J. W., Bowman, B. H., Berbee, M. L., & White, T. J. (1993). Fungal model organisms: phylogenetics of *Saccharomyces*, *Aspergillus*, and *Neurospora*. *Systematic biology*, 42(4), 440-457.
- Thomas, E., Roman, E., Claypool, S., Manzoor, N., Pla, J., & Panwar, S. L. (2013). Mitochondria influence CDR1 efflux pump activity, Hog1-mediated oxidative stress pathway, iron homeostasis, and ergosterol levels in *Candida albicans*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 57(11), 5580-5599.
- Toledano, M. B., Delaunay, A., Biteau, B., Spector, D., Azevedo, D. (2003) Oxidative stress responses in yeast. *Springer* ISBN 3-540-53926-9.
- Toone, W. M., & Jones, N. (1998). Stress-activated signalling pathways in yeast. *Genes to Cells*, 3(8), 485-498.
- Toone, W. M., Kuge, S., Samuels, M., Morgan, B. A., Toda, T., & Jones, N. (1998). Regulation of the fission yeast transcription factor Pap1 by oxidative stress: requirement for the nuclear export factor Crm1 (Exportin) and the stress-activated MAP kinase Sty1/Spc1. *Genes & development*, 12(10), 1453-1463.
- Toone, W. M., & Jones, N. (1999). AP-1 transcription factors in yeast. *Current opinion in genetics & development*, 9(1), 55-61.

- Toone, W. M., Morgan, B. A., & Jones, N. (2001). Redox control of AP-1-like factors in yeast and beyond. *Oncogene*, 20(19), 2336-2346.
- Trotter, E.W. and Grant, C.M. (2003) Non-reciprocal regulation of the redox state of the glutathione–glutaredoxin and thioredoxin systems. *EMBO Rep.* 4, 1–5.
- Tóth, V., Antal, K., Gyémánt, G., Miskei, M., Pócsi, I., & Emri, T. (2009). Optimization of coprogen production in *Neurospora crassa*. *Acta Biologica Hungarica*, 60(3), 321-328.
- Udomsinprasert R., Pongjaroenkit S., Wongsantichon J., Oakley A. J., Prapanthadara L. A., Wilce M. C., Ketterman A. J.(2005) Identification, characterization and structure of a new Delta class glutathione transferase isoenzyme. *Biochem J.* Jun 15;388(Pt 3):763-71.
- Udomsinprasert, R., Pongjaroenkit, S., Wongsantichon, J., Oakley, A. J., Prapanthadara, L. A., Wilce, M. C., & Ketterman, A. J. (2005). Identification, characterization and structure of a new Delta class glutathione transferase isoenzyme. *Biochemical Journal*, 388(3), 763-771.
- Unkles, S. E., Symington, V. F., Kotur, Z., Wang, Y., Siddiqi, M. Y., Kinghorn, J. R., & Glass, A. D. (2011). Physiological and biochemical characterization of AnNitA, the *Aspergillus nidulans* high-affinity nitrite transporter. *Eukaryotic cell*, 10(12), 1724-1732.
- Van Nguyen, T., Kröger, C., Bönnighausen, J., Schäfer, W., & Bormann, J. (2013). The ATF/CREB transcription factor Atf1 is essential for full virulence, deoxynivalenol production, and stress tolerance in the cereal pathogen *Fusarium graminearum*. *Molecular plant-microbe interactions*, 26(12), 1378-1394.
- Vandenberghe, L. P., Soccol, C. R., Pandey, A., & Lebeault, J. M. (2000). Solid-state fermentation for the synthesis of citric acid by *Aspergillus niger*. *Bioresource Technology*, 74(2), 175-178.
- Veal, E. A., Day, A. M., & Morgan, B. A. (2007). Hydrogen peroxide sensing and signaling. *Molecular cell*, 26(1), 1-14.
- Vo, T. V., Das, J., Meyer, M. J., Cordero, N. A., Akturk, N., Wei, X., Fair, B. J., Degatano, A. G., Fragoza, R., Liu, L. G., Matsuyama, A., Trickey, M., Horibata, S., Grimson, A., Yamano, H., Yoshida, M., Roth, F. P., Pleiss, J. A., Xia, Y., Yu, H. (2016). A proteome-wide fission yeast interactome reveals network evolution principles from yeasts to human. *Cell*, 164(1), 310-323.
- Vogel, C., Silva, G. M., & Marcotte, E. M. (2011). Protein expression regulation under oxidative stress. *Molecular & Cellular Proteomics*, 10(12), M111-009217.
- Wang, H., Xu, Z., Gao, L., & Hao, B. (2009). A fungal phylogeny based on 82 complete genomes using the composition vector method. *BMC evolutionary biology*, 9(1), 195.
- Welker, S., Rudolph, B., Frenzel, E., Hagn, F., Liebisch, G., Schmitz, G., Scheuring, J., Kerth, A., Blume, A., Weinkauff, S., Haslbeck, M., Kessler, H., Buchner, J., 2010. Hsp12 Is an intrinsically unstructured stress protein that folds upon

- membrane association and modulates membrane function. *Mol. Cell* 39, 507–520.
- Wenzel, R. P. Nosocomial candidemia: risk factors and attributable mortality. *Clin. Infect. Dis.* 20, 153–154 (1995). One of the first studies on the estimation of mortality in the background of immunocompromised patients.
- Wieser, R., Adam, G., Wagner, A., Schüller, C., Marchler, G., Ruis, H., Krawiec, Z., Bilinski, T. Heat shock factor-independent heat control of transcription of the CTT1 gene encoding the cytosolic catalase T of *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem.* 1991, 266:12406-12411.
- Wilkinson, M. G., Samuels, M., Takeda, T., Toone, W. M., Shieh, J. C., Toda, T., ... & Jones, N. (1996). The Atf1 transcription factor is a target for the Sty1 stress-activated MAP kinase pathway in fission yeast. *Genes & development*, 10(18), 2289-2301.
- Wongwicharn, A., McNeil, B., & Harvey, L. M. (1999). Effect of oxygen enrichment on morphology, growth, and heterologous protein production in chemostat cultures of *Aspergillus niger* B1-D. *Biotechnology and bioengineering*, 65(4), 416-424.
- Wood, N. J., & Sørensen, J. (2001). Catalase and superoxide dismutase activity in ammonia-oxidising bacteria. *FEMS microbiology ecology*, 38(1), 53-58.
- Wood, Z. A., Schröder, E., Harris, J. R., & Poole, L. B. (2003). Structure, mechanism and regulation of peroxiredoxins. *Trends in biochemical sciences*, 28(1), 32-40.
- Wortman, J. R., Gilsenan, J. M., Joardar, V., Deegan, J., Clutterbuck, J., Andersen, M.R., Archer, D., Bencina, M., Braus, G., Coutinho, P., von Döhren, H., Doonan, J., Driessen, A. J. M., Durek, P., Espeso, E., Fekete, E., Flipphi, M., Estrada, C. G., Geysens, S., Goldman, G., de Groot, P. W. J., Hansen, K., Harris, S. D., Heinekamp, T., Helmstaedt, K., Henrissat, B., Hofmann, G., Homan, T., Horio, T., Horiuchi, H., James, S., Jones, M., Karaffa, L., Karányi, Z., Kato, M., Keller, N., Kelly, D. E., Kiel, J. A. K., Kim, J-M., van der Klei, I. J., Klis, F. M., Kovalchuk, A., Kraševac, N., Kubicek, C. P., Liu, B., MacCabe, A., Meyer, V., Mirabito, P., Miskei, M., Mos, M., Mullins, J., Nelson, D. R., Nielsen, J., Oakley, B. R., Osmani, S. A., Pakula, T., Paszewski, A., Paulsen, I., Pilsyk, S., Pócsi, I., Punt, P. J., Ram, A. F. J., Ren, Q., Robellet, X., Robson, G., Seiboth, B., van Solingen, P., Specht, T., Sun, J., Taheri-Talesh, N., Takeshita, N., Ussery, D., van Kuyk, P. A., Visser, H., van de Vondervoort, P. J. I., de Vries, R. P., Walton, J., Xiang, X., Xiong, Y., Zeng, A. P., Brandt, B. W., Cornell, M. J., van den Hondel, C. A. M., Visser, J., Oliver, S. G., Turner, G. (2009) The 2008 update of the *Aspergillus nidulans* genome annotation: a community effort. *Fungal Genet. Biol.* 46, S2-S13.
- Wu, A. L., & Moye-Rowley, W. S. (1994). GSH1, which encodes gamma-glutamylcysteine synthetase, is a target gene for yAP-1 transcriptional regulation. *Molecular and Cellular Biology*, 14(9), 5832-5839.

- Wyatt, T. T., Gerwig, G. J., Kamerling, J. P., Wösten, H. A., & Dijksterhuis, J. (2015). Structural analysis of novel trehalose-based oligosaccharides from extremely stress-tolerant ascospores of *Neosartorya fischeri* (*Aspergillus fischeri*). *Carbohydrate research*, 411, 49-55.
- Wysong, D. R., Christin, L., Sugar, A. M., Robbins, P. W., & Diamond, R. D. (1998). Cloning and sequencing of a *Candida albicans* catalase gene and effects of disruption of this gene. *Infection and immunity*, 66(5), 1953-1961.
- Zhao, H., Sapolsky, R. M., and Steinberg, G. K. (2006). Interrupting reperfusion as a stroke therapy: ischemic postconditioning reduces infarct size after focal ischemia in rats. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 26, 1114–1121.
- Xu N., Cheng X., Yu Q., Quian K., Ding X., Liu R. Zhang B., Xing L., Li M. (2013) Aft2, Novel Transcription Regulator, Is Required for Iron Metabolism, Oxidative Stress, Surface Adhesion and Hyphal Development in *Candida albicans*. Open Access e62367.
- Yin, W. B., Amaike, S., Wohlbach, D. J., Gasch, A. P., Chiang, Y. M., Wang, C. C., Bok, J. W., Rohlf, M., Keller, N.P. (2012) An *Aspergillus nidulans* bZIP response pathway hardwired for defensive secondary metabolism operates through aflR. *Mol Microbiol*, 83:1024–34.
- Yonetani, T. (1965) Studies on cytochrome c peroxidase. II. Stoichiometry between enzyme, H₂O₂, and ferrocytochrome c and enzymic determination of extinction coefficients of cytochrome c. *J Biol Chem.* Nov;240(11):4509-14.
- Yu, J. H., Wieser, J., & Adams, T. H. (1996). The *Aspergillus* FlbA RGS domain protein antagonizes G protein signaling to block proliferation and allow development. *The EMBO journal*, 15(19), 5184-5190.
- Yu, J. H., Hamari, Z., Han, K. H., Seo, J. A., Reyes-Domínguez, Y., & Scazzocchio, C. (2004). Double-joint PCR: a PCR-based molecular tool for gene manipulations in filamentous fungi. *Fungal genetics and biology*, 41(11), 973-981.
- Yin, W. B., Reinke, A. W., Szilágyi, M., Emri, T., Chiang, Y. M., Keating, A. E., Pócsi, I., Wang, C. C., Keller, N. P. (2013) bZIP transcription factors affecting secondary metabolism, sexual development and stress responses in *Aspergillus nidulans*. *Microbiology* (159) 77-88.

10. Tudományos közlemények jegyzéke

Az értekezés alapjául szolgáló tudományos közlemények

1. **Orosz, E.**, van de Wiele, N., Emri, T., Zhou, M., Robert, V., de Vries, R.P. and Pócsi, I. (2018) Fungal Stress Database (FSD) – a repository of fungal stress physiological data. *Database*. bay009
2. **Orosz, E.**, Antal, K., Gazdag, Z., Szabó, Z., Han, K. H., Yu, J. H., Pócsi I., Emri, T. (2017). Transcriptome-Based Modeling Reveals that Oxidative Stress Induces Modulation of the AtfA-Dependent Signaling Networks in *Aspergillus nidulans*. *International journal of genomics*, 2017. 6923849

Egyéb közlemények

1. Vries, R., Riley, R., Wiebenga, A., Aguilar-Osorio, G., Amillis, S., Akemi Uchima, C., Anderluh, G., Asadollahi, M., Askin, M., Barry, K., Battaglia, E., Bayram, Ö., Benocci, T., Braus-Stromeyer, S., Caldana, C., Cánovas, D., Cerqueira, G., Chen, F., Chen, W., Choi, C., Clum, A., Corrêa dos, S., Lima Damásio, A., Diallinas, G., Emri, T., Fekete, E., Flippin, M., Freyberg, S., Gallo Antonia, Gournas, C., Habgood, R., Hainaut, M., Harispe, M., Henrissat, B., Hildén, K., Hope, R., Hossain, A., Karabika, E., Karaffa, L., Karányi, Z., Kraševac, N., Kuo, A., Kusch, H., LaButti, K., Legendijk, E., Lapidus, A., Levasseur, A., Lindquist, E., Lipzen, A., Logrieco, A., MacCabe, A., Mäkelä, M., Malavazi, I., Melin, P., Meyer, V., Mielnichuk, N., Miskei, M., Molnár, Á., Mulé, G., Ngan, C., Orejas, M., **Orosz, E.**, Ouedraogo, J., Overkamp, K., Park, H., Perrone, G., Piumi, F., Punt, P., Ram, A., Ramón, A., Rauscher, S., Record, E., Riaño-Pachón, D., Robert, V., Röhrig, J., Ruller, R., Salamov, A., Salih, N., Samson, R., Sándor, E., Sanguinetti, M., Schütze, T., Sepčić, K., Shelest, E., Sherlock, G., Sophianopoulou, V., Squina, F., Sun, H., Susca, A., Todd, R., Tsang, A., Unkles, S., Wiele, N., Rossen-Uffink, D., Velasco de, C., Vesth, T., Visser, J., Yu, J., Zhou, M., Andersen, M., Archer, D., Baker, S., Benoit, I., Brakhage, A., Braus, G., Fischer, R., Frisvad, J., Goldman, G., Houburken, J., Oakley, B., Pócsi, I., Scazzocchio, C., Seiboth, B., Kuyk, P., Wortman, J., Dyer, P., Grigoriev, I.: Comparative genomics reveals high biological diversity and specific adaptations in the industrially and medically important fungal genus *Aspergillus*. *Genome Biol* 18 (28), 1-45., 2017.

2. Bakti, F., Király, A., **Orosz, E.**, Miskei, M., Emri, T., Leiter, É., & Pócsi, I. (2017). Study on the glutathione metabolism of the filamentous fungus *Aspergillus nidulans*. *Acta microbiologica et immunologica Hungarica*, 64(3), 255-272.
3. Leiter, É., Bálint, M., Miskei, M., **Orosz, E.**, Szabó, Z., Pócsi, I. (2016) Stress tolerances of nullmutants of function-unknown genes encoding menadione stress-responsive proteins in *Aspergillus nidulans*. *J. Basic Microbiol* 56 (7), 827-833., 2016.
4. Emri, T., Szarvas, V., **Orosz, E.**, Antal, K., Park, H., Han, K. H., Yu J. H., Pócsi, I. (2015). Core oxidative stress response in *Aspergillus nidulans*. *BMC genomics*, 16(1), 478.

Az értekezés témakörében elhangzott előadások és posztterek

1. **Orosz, E.**, van de Wiele, N., Emri, T., Zhou, M., Robert, V., de Vries, R.P. and Pócsi, I. (2017) Extended analysis of stress response tolerance of the aspergilli. VI. Magyar Mikológiai Konferencia, Szeged.
2. **Orosz, E.**, Antal, K., Gazdag, Z., Szabó, Z., Han, K. H., Yu, J. H., Emri, T. (2017) AtfA-controlled transcriptional changes in *Aspergillus nidulans* caused by oxidative stress. VI. Magyar Mikológiai Konferencia, Szeged.

11. Függelék

1. függelék A különböző stresszérzékenységi gének száma a kontroll és a *ΔatfA* törzsben.

		Kontroll törzs							Nincs stresszválasz	Összesen
		MSB	<i>t</i> BOOH	diamid	MSB és <i>t</i> BOOH	MSB és diamid	diamid és <i>t</i> BOOH	MSB, diamid és <i>t</i> BOOH		
<i>ΔatfA</i> törzs	MSB		70	3	58	10	6	5	297	449
	<i>t</i> BOOH	33		5	83	2	6	13	161	303
	diamid	17	11		2	38	14	8	136	226
	MSB és <i>t</i> BOOH	10	120	0		1	5	14	21	171
	MSB és diamid	3	4	10	1		8	18	6	50
	diamid és <i>t</i> BOOH	17	10	19	21	20		19	62	168
	MSB, diamid és <i>t</i> BOOH	8	52	2	19	3	47		21	152
Nincs stresszválasz		484	262	156	95	20	17	11		1045
Összesen:		572	529	195	279	94	103	88	704	

2. függelék Az AtfA-függő géncsoportokhoz tartozó microarray adatok. Az **up-regulálódott** és **down-regulálódott** géneket a **piros** és a **kék** színek jelzik.

„Riboszóma biogenezis” gének

Gén ID	Gén név	GO term	Microarray adatok (log ₂ R)					
			Kontroll törzs			<i>ΔatfA</i> törzs		
			MSB	<i>t</i> BOOH	diamid	MSB	<i>t</i> BOOH	diamid
AN0074		ribosomal large subunit biogenesis	-0,78673	-3,00441	-3,1088	-2,9417	-4,05494	-3,74117
AN0092		rRNA processing	0,070913	-2,50935	-1,1596	-2,87836	-4,36328	-2,69938
AN0124	<i>rio2</i>	maturation of SSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-0,8197	-1,36085	1,645051	-1,03291	-3,24	0,632771
AN0133		maturation of SSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-0,70808	-1,54321	-0,51206	-1,48834	-1,64355	-0,57024
AN0189		rRNA processing	-0,56239	-1,33021	-1,52576	-0,83795	-1,65087	-1,60738
AN0237		maturation of LSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-0,82469	-1,71584	-2,28214	-1,78707	-2,90168	-3,06885
AN0247		ribosomal small subunit biogenesis	-0,56854	-2,87612	-2,26562	-2,57441	-4,15191	-3,29958
AN0262		ribosomal large subunit assembly	-3,21617	-3,2208	-0,32881	-1,48494	-3,30536	-0,18197
AN0305		endonucleolytic cleavage in ITS1 to separate SSU-rRNA from 5.8S rRNA and LSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-0,29429	-2,81853	-1,60758	-2,48319	-3,75433	-2,95137
AN0327		rRNA processing	-1,57496	-0,73518	0,38345	-0,83101	-0,95572	0,418711
AN0410	<i>bimG</i>	rRNA processing	0,376805	0,231847	1,30514	-0,48906	0,367895	1,39494

AN0421	endonucleolytic cleavage in ITS1 to separate SSU-rRNA from 5.8S rRNA and LSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	0,272066	-2,75785	-3,8914	-2,10358	-3,33726	-3,18908	
AN0465	maturation of SSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)		-2,91822	-2,45014	-1,04435	-1,5153	-2,72755	-0,50921
AN0475	endonucleolytic cleavage in ITS1 to separate SSU-rRNA from 5.8S rRNA and LSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	0,03184	-2,2536	-2,06727	-1,89211	-2,83594	-3,06642	
AN0647	ribosomal small subunit biogenesis	-0,44489	-3,03464	-2,6888	-2,72743	-4,51193	-3,1068	
AN0685	rRNA base methylation	0,235853	0,221361	0,120577	0,045758	0,229144	0,411581	
AN0695	rRNA pseudouridine synthesis	-0,93695	-3,73543	-1,99536	-2,55155	-4,77811	-1,72161	
AN0707	rRNA processing	0,006075	0,149677	-1,6495	-0,49274	0,572775	-0,19071	
AN0728	ribosome biogenesis	-0,19952	-1,54433	-1,65692	-1,21411	-1,22891	-1,38016	
AN0745	tRNA processing	-1,13417	-3,65832	-2,2268	-2,79266	-5,08577	-2,67027	
AN0767	maturation of SSU-rRNA	0,136429	-0,0134	0,840389	-0,39487	-0,28485	0,069646	
AN0796	rRNA processing	1,264577	-1,75472	0,405776	-2,1744	-2,95431	-1,13175	
AN0843	rRNA export from nucleus		-2,69428	-2,64405	-1,46906	-1,95483	-2,28376	-0,80251
AN0946	ribosomal large subunit biogenesis	0,107536	-1,68636	-1,36423	-2,32062	-2,70699	-2,1051	
AN10058	ribosomal large subunit assembly	-0,6311	-2,07603	0,23282	-2,24413	-3,14401	-0,43738	
AN1013	ribosomal large subunit assembly		-2,40364	-2,37155	-0,4975	-0,73987	-2,19548	-0,01707

AN10175		ribosome biogenesis	-0,84749	-0,35118	0,498981	-0,30041	-1,07745	0,267592
AN10200	<i>rpf2</i>	ribosomal large subunit biogenesis	-0,57809	-3,25647	-2,40691	-3,02523	-4,89105	-2,69739
AN10348		exonucleolytic trimming to generate mature 3'-end of 5.8S rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	1,366515	0,326479	0,955812	0,07095	0,05003	0,541924
AN10352		rRNA processing	-0,80876	-3,14274	-2,57808	-3,05717	-4,746	-3,12109
AN10618		ribosomal small subunit export from nucleus	0,045594	-2,02155	-0,70455	-2,17518	-2,42081	-0,41388
AN10712		ribosome biogenesis	-1,32233	-3,25537	-2,50694	-2,39136	-3,44339	-2,38249
AN10719		maturation of SSU-rRNA	0,105035	-0,16108	1,558647	-0,07505	0,414796	1,728915
AN10721		maturation of LSU-rRNA	0,341449	-0,42661	1,189639	-1,114	-1,49811	-0,38759
AN10865		endonucleolytic cleavage in ITS1 to separate SSU-rRNA from 5.8S rRNA and LSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	1,184755	-0,62613	1,603779	-0,61453	-1,77487	0,15879
AN10940		rRNA methylation	0,231647	-0,6637	-1,19679	-0,54315	-0,57454	-0,66809
AN10943		ribosomal large subunit export from nucleus	0,393497	-1,98366	-0,6443	-3,03056	-4,31424	-2,15544
AN10955		rRNA processing	-0,76044	-1,35888	0,095442	-1,674	-2,0904	-0,43827
AN11145	<i>cgrA</i>	rRNA processing	-0,87114	-2,23601	-1,49694	-2,87128	-2,98661	-3,00339
AN11224		endonucleolytic cleavage involved in rRNA processing	0,379693	0,091184	0,29778	-0,89115	-0,0161	0,149077
AN11250		exonucleolytic trimming to generate mature 3'-end of 5.8S rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	0,5842	-0,57606	1,23449	-1,75055	-1,2118	-0,27114

AN1166		ribosomal large subunit assembly	-2,79817	-2,77767	-1,06792	-1,56062	-2,61062	-0,76062
AN1175		rRNA processing	-0,00092	-1,05372	-1,43727	-1,59335	-1,7906	-2,04395
AN11773		exonucleolytic trimming to generate mature 3'-end of 5.8S rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-0,52399	-2,54137	-2,46432	-2,19002	-4,1611	-3,55126
AN11929		ribosomal small subunit assembly	-0,12984	-1,65437	0,073697	-1,55419	-2,6246	-1,08064
AN1200		ribosomal large subunit assembly	0,361414	-1,90586	-2,21218	-2,22853	-2,72958	-2,75431
AN1215		ribosomal large subunit export from nucleus	-0,50956	-2,37414	-1,33833	-2,71906	-1,79569	-1,93481
AN1228		maturation of LSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-2,74719	-2,55074	-1,05	-1,68471	-2,28772	-0,82691
AN12473	<i>hscA</i>	rRNA processing	-1,88958	-3,20106	-1,05872	-2,32142	-4,72398	-0,56174
AN1319		maturation of SSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-0,94274	-2,71948	-0,61022	-1,64167	-2,2692	-0,21598
AN1345		maturation of SSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-2,62041	-2,14248	-0,83059	-1,44927	-2,69934	-0,42518
AN1367	<i>bop1</i>	ribosomal large subunit biogenesis	-0,6406	-3,32	-2,45667	-2,43359	-3,51709	-3,00989
AN1434		endonucleolytic cleavage in ITS1 to separate SSU-rRNA from 5.8S rRNA and LSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	0,401115	-1,67867	-1,65304	-1,65444	-1,94937	-1,82942
AN1474		ribosome biogenesis	-0,06114	-1,02722	-0,2463	-1,15154	-1,24716	-0,55076
AN1533		endonucleolytic cleavage in ITS1 to separate SSU-rRNA from 5.8S rRNA and LSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-	-1,36694	-1,6539	-2,51271	-1,56496	-2,37802	-2,74078

		rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)						
AN1666		ribosomal large subunit export from nucleus	-0,11187	-3,31712	-4,23138	-2,63571	-4,50547	-4,28539
AN1711		ribosomal large subunit export from nucleus	0,539833	-1,18173	-0,37835	-1,91528	-3,47366	-1,97635
AN1875		ribosomal large subunit biogenesis	2,778565	0,769587	0,730188	-0,66606	-0,2469	0,172892
AN1949		maturation of SSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-0,22118	-2,95945	-0,56587	-2,69084	-4,15061	-1,98621
AN1957		rRNA modification	-0,41669	-0,96724	-1,37841	-0,88196	-0,98759	-1,06947
AN1964		maturation of SSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-2,66149	-2,78295	-1,93011	-1,54118	-1,79514	-0,93456
AN2079		maturation of SSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-0,4215	-2,01283	-0,10394	-2,14687	-2,08982	-0,36777
AN2210		ribosomal small subunit export from nucleus	0,153853	-1,51249	-0,34419	-1,30074	-0,81115	0,46124
AN2262		ribosomal small subunit biogenesis	1,362236	-1,2304	-0,77811	-1,32392	-1,7745	-1,90576
AN2263		ribosomal large subunit assembly	1,988187	-0,42101	-1,02929	-0,68281	-1,21783	-2,18707
AN2292		maturation of SSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-0,04852	-1,74728	-2,24675	-2,38045	-2,82152	-2,60916
AN2437		tRNA processing	-0,65239	-1,11471	0,143248	-0,96602	-1,12059	-0,60485
AN2734		ribosomal large subunit assembly	-2,78956	-2,95643	-0,63614	-1,43568	-2,84024	-0,53753
AN2737	<i>mexA</i>	ribosomal large subunit export from nucleus	2,19472	1,699434	0,836893	0,366365	1,674089	0,868901
AN2759		endonucleolytic cleavage in ITS1 to separate SSU-rRNA from 5.8S rRNA and LSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-	0,08513	-0,61352	-0,64021	-1,05389	-1,65623	-1,04771

		rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)							
AN2926	<i>nsa2</i>	maturation of LSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-0,63302	-2,62799	-1,45583	-2,39868	-3,51385	-2,31219	
AN3056		maturation of SSU-rRNA	-0,66504	-2,43227	-2,00067	-1,62231	-3,04893	-2,3363	
AN3096	<i>rmtB</i>	ribosome biogenesis	-0,44367	-2,16872	-0,92658	-0,65758	-3,8692	-1,65907	
AN3167	<i>nop58</i>	endonucleolytic cleavage in 5'-ETS of tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-0,80372	-3,05372	-2,21491	-2,4962	-3,98088	-2,34137	
AN3172		ribosomal small subunit assembly	-3,31677	-3,10327	-1,5696	-1,90942	-2,32511	-0,58629	
AN3313		rRNA modification	-0,68682	-2,22653	-2,68075	-1,7389	-2,90407	-2,55047	
AN3413		rRNA export from nucleus	-3,0608	-2,73798	-1,47672	-1,97469	-2,41854	-0,9079	
AN3455		rRNA processing	0,2394	0,161938	-0,88446	-1,51603	-0,39175	-2,036	
AN3657		exonucleolytic trimming to generate mature 3'-end of 5.8S rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-0,45278	-0,98437	-0,4185	-0,64007	-0,87218	-0,23024	
AN3706		rRNA export from nucleus	-3,26913	-3,30306	-0,91125	-1,88091	-2,99752	-0,3523	
AN3745	<i>rrs1</i>	ribosomal large subunit export from nucleus	-0,54418	-3,43385	-3,04524	-3,01155	-4,15924	-3,39922	
AN3812		exonucleolytic trimming to generate mature 3'-end of 5.8S rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-0,70312	-0,91457	-1,50759	-1,10967	-1,80171	-1,61088	
AN3823		endonucleolytic cleavage in ITS1 to separate SSU-rRNA from 5.8S rRNA and LSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-	-2,45224	-1,64294	-0,3054	-0,81305	-1,65923	0,21655	

		rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)						
AN3827		ribosome biogenesis	-0,59711	-3,79209	-2,60444	-3,09928	-5,05095	-3,47511
AN4060	<i>rps16</i>	ribosomal small subunit biogenesis	-2,85701	-3,05285	-1,25283	-1,77168	-2,85194	-0,66855
AN4087		ribosomal small subunit export from nucleus	-2,74527	-2,335	-0,47972	-0,9185	-2,40434	-0,15113
AN4226		maturation of SSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-0,24512	-1,34238	-1,60485	-1,2572	-1,25508	-1,46964
AN4232		ribosomal large subunit assembly	0,048168	-2,44629	-2,54094	-2,41907	-3,95833	-3,69436
AN4298		endonucleolytic cleavage in ITS1 to separate SSU-rRNA from 5.8S rRNA and LSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	0,204266	-2,34261	-2,57076	-2,7758	-4,31933	-3,04712
AN4419		ribosomal large subunit assembly	0,107179	2,2445	0,408009	0,173448	1,901091	0,13117
AN4460		rRNA processing	-0,75598	-2,83697	-3,20999	-1,40286	-1,77324	-3,35761
AN4469		ribosomal large subunit biogenesis	-0,49836	-2,61559	-0,01459	-2,31617	-2,71133	-0,52175
AN4471		ribosomal large subunit assembly	-0,33543	-2,17577	-0,67618	-2,64105	-3,82216	-1,86501
AN4475		ribosomal large subunit assembly	-3,01821	-2,99553	-0,36096	-1,29102	-3,18969	-0,22905
AN4560		ribosomal large subunit biogenesis	-0,5976	-2,25621	-0,76288	-2,30272	-2,76138	-1,54928
AN4594		maturation of SSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-3,62695	-3,74864	-0,68241	-1,48126	-4,55231	-0,62311
AN4599		cleavage in ITS2 between 5.8S rRNA and LSU-rRNA of tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-0,34171	-0,74293	-0,3225	-0,67771	-0,54828	-0,17183

AN4616	<i>ssz1</i>	rRNA processing	-0,62474	-2,78541	-1,28749	-2,32729	-3,16132	-0,42314
AN4648		rRNA processing	-0,444	-2,65835	-2,61748	-2,43329	-3,20508	-2,73413
AN4771		ribosomal large subunit assembly	-0,27237	-1,84644	-2,748	-1,6396	-2,8075	-3,08341
AN4777		ribosomal small subunit assembly	-1,41923	-0,99741	0,028728	-1,11563	-0,70885	0,26499
AN4803	<i>ubi1</i>	maturation of SSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-3,10915	-2,86525	-1,11641	-1,01731	-2,21757	-0,35892
AN4872		ribosomal small subunit assembly	-2,34792	-2,11765	-0,25064	-1,16334	-1,82151	0,123553
AN4916		ribosome biogenesis	-2,9435	-2,39644	-1,73624	-1,32302	-1,67557	-0,69221
AN5013		exonucleolytic trimming to generate mature 3'-end of 5.8S rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	0,40534	0,107515	-0,60749	0,233192	-0,1622	-0,11352
AN5177		ribosomal large subunit biogenesis	-2,96517	-2,32694	-3,23042	-0,64149	-1,8349	-1,97144
AN5222		ribosomal small subunit assembly	-3,02685	-3,00058	-1,07269	-1,42081	-2,90442	-0,77665
AN5340		endonucleolytic cleavage in ITS1 to separate SSU-rRNA from 5.8S rRNA and LSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	0,367287	-2,22825	-2,54504	-2,63698	-3,34906	-2,9848
AN5441		rRNA export from nucleus	-2,85865	-2,70683	-0,84529	-1,21165	-2,9622	-0,58434
AN5443		mature ribosome assembly	0,368968	-0,26454	-1,18095	-0,65002	-0,18297	-1,25529
AN5455		endonucleolytic cleavage in ITS1 to separate SSU-rRNA from 5.8S rRNA and LSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-0,24142	-1,45353	-1,57714	-0,95701	-0,86931	-0,83396

AN5520	maturation of LSU-rRNA	-3,1202	-3,48265	-1,41898	-1,24173	-2,77137	-0,45139
AN5702	ribosomal large subunit biogenesis	-0,60602	-3,12198	-1,71342	-2,1101	-3,48917	-1,50537
AN5711	maturation of SSU-rRNA	0,250147	-0,49786	-1,2292	-0,73281	-0,76379	-1,20264
AN5715	rRNA export from nucleus	-2,85867	-2,20134	-0,54742	-1,29954	-1,98849	-0,19095
AN5785	endonucleolytic cleavage in ITS1 to separate SSU-rRNA from 5.8S rRNA and LSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	0,012199	-1,8959	-1,09439	-1,74421	-3,89673	-2,18755
AN5789	ribosomal small subunit export from nucleus	-0,60861	-2,49865	-2,29343	-2,27696	-3,771	-1,94211
AN5865	ribosomal subunit export from nucleus	-0,26744	-2,63762	-3,39397	-2,49424	-3,11696	-2,87396
AN5871	rRNA methylation	0,284397	-2,10657	-2,00833	-2,21281	-3,26994	-3,17371
AN5875	endonucleolytic cleavage in ITS1 to separate SSU-rRNA from 5.8S rRNA and LSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-0,33483	-1,96774	0,104352	-1,38319	-1,71172	0,21045
AN5910	rRNA processing	-1,13882	-0,85517	-2,93111	-0,25136	-0,18176	-1,26503
AN5960	ribosomal small subunit assembly	-2,59832	-2,91745	-0,99324	-1,43514	-2,09926	-0,4365
AN5979	ribosomal small subunit assembly	-2,91801	-2,31311	-0,26794	-1,06962	-2,63714	-0,20985
AN5997	rRNA export from nucleus	-2,96224	-2,27256	-0,67225	-1,19896	-2,70742	-0,45008
AN6067	mature ribosome assembly	0,427101	-1,16262	-2,57469	-1,37923	-1,79402	-3,02211
AN6082	rRNA processing	-1,28562	-1,30056	0,335659	-0,79702	-1,51163	0,285429
AN6083	ribosomal large subunit assembly	0,139948	-0,21132	0,310783	0,727979	0,088322	0,464146

AN6112	<i>dnfB</i>	ribosomal small subunit assembly	-0,62439	0,475584	0,360203	-0,14163	0,775906	0,859035
AN6149		mitochondrial large ribosomal subunit assembly	0,731919	-1,83706	-0,04372	-0,82691	-1,12747	0,181558
AN6171		ribosomal small subunit biogenesis	-0,8865	-3,48901	-2,02301	-2,30091	-4,43237	-2,31416
AN6202	<i>rpl3</i>	ribosomal large subunit assembly	-3,46818	-2,77512	-0,87634	-0,69876	-2,41595	-0,34615
AN6244		exonucleolytic trimming to generate mature 3'-end of 5.8S rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-0,54474	-0,90051	-0,13058	-1,56413	-1,20433	0,110802
AN6265		endonucleolytic cleavage in ITS1 to separate SSU-rRNA from 5.8S rRNA and LSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	0,586849	-1,32389	-1,36825	-1,87704	-2,54873	-2,1671
AN6266		ribosome biogenesis	-0,66357	-3,39841	-0,52616	-1,84436	-4,06026	-0,50067
AN6310		ribosomal large subunit assembly	-1,16908	-3,06446	-2,52155	-2,21557	-4,00977	-3,55862
AN6334		ribosome biogenesis	-0,13135	-1,9338	-0,05068	-1,67376	-1,76182	0,270563
AN6374		maturation of LSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-0,36764	-2,46914	-1,02452	-2,57594	-3,78031	-2,24516
AN6514		maturation of LSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	0,387	0,631401	0,050629	-0,05203	0,288189	0,016395
AN6556		endonucleolytic cleavage in ITS1 to separate SSU-rRNA from 5.8S rRNA and LSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-1,57861	-3,859	-2,86122	-2,73541	-4,89362	-3,19303
AN6561		maturation of SSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	0,424803	-0,5786	-0,8962	-1,63841	-1,40919	-1,24089

AN6563		ribosome biogenesis	-2,25506	-2,67381	-1,47184	-1,179	-2,61179	-0,73536
AN6585		maturation of SSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-0,4224	-2,17524	-2,39552	-1,30111	-1,82802	-1,8587
AN6612		maturation of LSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-0,15472	-3,0708	-2,60748	-2,87381	-4,67799	-3,92196
AN6632		ribosomal small subunit assembly	-2,84115	-2,941	-0,87813	-1,44588	-3,13089	-0,68622
AN6651		ribosomal small subunit biogenesis	0,780159	-1,70078	-3,72783	-1,665	-0,75782	-3,14004
AN6679		maturation of SSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-2,90802	-2,00651	-0,30661	-1,70549	-2,32505	-0,07728
AN6902		ribosomal large subunit assembly	-0,67321	-3,49981	-4,01404	-2,73416	-4,6115	-4,07888
AN6978	<i>rcc1</i>	ribosomal subunit export from nucleus	-0,71794	-1,46664	-0,95945	-0,97954	-1,31261	-1,18974
AN6980	<i>nic96</i>	ribosomal large subunit export from nucleus	-1,02533	-0,32142	-1,09382	-1,43826	-1,54113	-1,59768
AN7205		ribosome biogenesis	-0,16913	-2,64251	-1,20917	-2,54077	-4,30418	-1,98033
AN7260		rRNA processing	-0,28684	-2,81369	-1,96534	-1,78877	-3,28084	-2,50114
AN7305		endonucleolytic cleavage in ITS1 to separate SSU-rRNA from 5.8S rRNA and LSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-1,11044	-2,00284	0,373387	-2,00126	-2,50831	0,228929
AN7424		endonucleolytic cleavage in ITS1 upstream of 5.8S rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	0,947342	-0,59124	0,416919	-2,69868	-1,54586	-0,07348
AN7526		maturation of SSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-0,15775	-2,50482	-2,6814	-2,12721	-2,86412	-2,6534

AN7630		ribosomal large subunit assembly	1,624379	-0,34692	1,061232	-0,65937	-1,59802	0,535277
AN7674		ribosomal large subunit biogenesis	0,051733	-2,3637	0,072675	-2,75562	-4,27551	-2,34758
AN8073		rRNA processing	-0,65406	-3,5178	-0,39071	-2,33166	-4,07448	-0,62104
AN8247		maturation of LSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	0,191317	-2,60954	-1,2775	-2,28263	-3,27972	-2,11527
AN8254	<i>nop10</i>	cleavage involved in rRNA processing	-0,70237	-2,97671	-0,91618	-2,62154	-3,85086	-1,99664
AN8293		rRNA processing	-0,31722	-1,41762	-1,01469	-1,66167	-1,98241	-0,79018
AN8491		maturation of LSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-0,3496	-3,03972	-1,77315	-2,73846	-4,32403	-2,61368
AN8668		ribosomal large subunit assembly	-0,25689	-0,58372	-0,54531	-0,79409	-0,52073	-0,66501
AN8671		rRNA processing	-0,9669	-0,37998	-1,29613	-0,62773	-0,2485	-0,70658
AN8691		rRNA processing	-0,23339	0,015158	1,181375	-0,12145	0,896557	1,19097
AN8805		ribosomal small subunit export from nucleus	-0,07973	-0,18093	0,019031	-0,03635	-0,21315	-0,00301
AN8824		ribosomal subunit export from nucleus	-0,19501	1,145849	0,316585	-0,62228	1,084807	-0,05742
AN8834		ribosomal large subunit assembly	0,20034	-1,53997	-1,51937	-1,66315	-2,18114	-1,84578
AN8849		rRNA base methylation	-0,90548	-0,30706	0,497856	-1,05081	-0,52374	-0,00021
AN8851	<i>swoC</i>	rRNA pseudouridine synthesis	-1,19888	-3,37715	-1,92107	-2,90922	-5,04669	-2,87709
AN8856		ribosomal large subunit assembly	-2,63544	-1,82233	-0,71811	-1,14285	-1,44891	-0,53475
AN8860		maturation of SSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-	-0,22261	-0,51202	0,100701	-0,62211	-2,03346	-0,29627

	rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)						
AN8870	maturation of SSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-2,64829	-2,0338	-0,09184	-1,39517	-2,46247	-0,09948
AN9060	ribosomal large subunit export from nucleus	0,996965	0,50131	0,325428	0,149142	0,01919	-0,20871
AN9097	maturation of SSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-2,30534	-2,32274	-0,80995	-1,33152	-2,5117	-0,65281
AN9398	endonucleolytic cleavage in ITS1 to separate SSU-rRNA from 5.8S rRNA and LSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	0,495176	-2,05621	-0,72888	-2,72102	-3,84914	-1,89843
AN9468	maturation of SSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)	-2,98665	-2,64953	-0,67132	-1,18593	-2,56496	-0,24442
Frequency in the up-regulated gene group:		3/636	2/686	0/493	0/546	0/504	0/449
Background frequency		177/10390					
Significant enrichment in the studied gene group in compare to the background frequency (Fisher's exact test, p<0.05):		NO	NO	NO	NO	NO	NO
Significant difference between the <i>ΔatfA</i> and the appropriate control strain (Fisher's exact test, p<0.05):							
Frequency in the down-regulated gene group:		36/653	110/645	30/357	NO	NO	NO
Background frequency		177/10390			106/557	99/638	46/525
Significant enrichment in the studied gene group in compare to the background frequency (Fisher's exact test, p<0.05):		YES	YES	YES	YES	YES	YES
Significant difference between the <i>ΔatfA</i> and the appropriate control strain (Fisher's exact test, p<0.05):					YES	NO	NO

„Mitotikus sejtciklus” gének

			Microarray adatok (log ₂ R)					
Gén ID	Gén	GO term	Kontroll törzs			<i>ΔatfA</i> törzs		
			MSB	tBOOH	diamid	MSB	tBOOH	diamid
AN0084		G1/S transition of mitotic cell cycle	-0,45922	-0,77029	0,263204	-0,43024	-1,03623	0,310216
AN0091		intra-S DNA damage checkpoint	1,806465	0,505875	1,437937	-0,25607	0,743028	0,976135
AN0118	<i>nudA</i>	mitotic sister chromatid segregation	-1,59635	-0,73486	-0,62868	-0,37792	0,009271	0,027402
AN0135		mitotic actomyosin contractile ring assembly	0,813409	0,772024	-1,31359	1,165749	0,533107	-0,86207
AN0140		mitotic actomyosin contractile ring assembly	-0,81999	-0,19503	-0,45357	0,078403	0,081341	0,232972
AN0143		mitotic spindle organization in nucleus	-0,66159	-0,4667	0,124104	0,093633	0,034652	-0,23868
AN0166		attachment of mitotic spindle microtubules to kinetochore	-1,80431	-1,30361	0,177744	-0,71416	-1,20003	-0,2641
AN0226		G2/M transition of mitotic cell cycle	3,038503	2,281981	1,952901	1,451394	1,649074	1,651229
AN0228		mitotic DNA replication	-3,32694	-2,42693	-4,60447	-2,07405	-1,8958	-3,20782
AN0253	<i>top1</i>	mitotic chromosome condensation	0,518939	0,938091	-0,49348	0,369646	1,022028	0,058325
AN0270		cellular bud site selection	-1,61364	0,694324	0,695887	0,36831	0,595783	0,958953
AN0281	<i>bubA</i>	mitotic spindle assembly checkpoint	0,629857	0,086261	1,965287	0,060043	0,686588	2,144954
AN0290		mitotic actomyosin contractile ring contraction	-1,44067	0,20948	0,705168	-0,03385	0,284764	0,740936
AN0295		mitotic spindle disassembly	0,225726	1,791702	2,730504	-0,20589	1,885659	3,105157
AN0347	<i>rabE</i>	mitotic cytokinesis	-0,85452	-0,32406	1,262223	-0,65787	-0,99462	0,795202
AN0410	<i>bimG</i>	mitotic spindle elongation	0,376805	0,231847	1,30514	-0,48906	0,367895	1,39494
AN0420	<i>nudG</i>	establishment of mitotic spindle localization	-1,88997	-1,28718	0,344386	-1,35169	-1,06246	0,187915
AN0504	<i>sitA</i>	G1/S transition of mitotic cell cycle	0,177824	-0,13076	-1,1542	0,657038	-0,31614	-0,7794
AN0556	<i>mreA</i>	intra-S DNA damage checkpoint	1,101219	2,210944	1,150907	0,443391	2,072729	0,812276
AN0676	<i>mipA</i>	mitotic cytokinesis, site selection	-23909	-1,02194	-1,83511	-0,98533	-1,18856	-1,24712
AN0696	<i>mad1</i>	mitotic spindle assembly checkpoint	0,141156	1,029624	-0,29064	-0,20658	0,740951	-0,08306
AN0733	<i>hhtA</i>	mitotic spindle assembly checkpoint	-0,59415	-0,53936	-1,25971	-0,14554	0,121468	-0,8802
AN0808	<i>swd1</i>	G2/M transition of mitotic cell cycle	-0,77587	-0,71054	-0,99174	-0,9284	-0,61055	-0,6304
AN0814	<i>cdc20</i>	mitotic sister chromatid segregation	-4,30124	-4,41727	-1,78485	-0,52394	-3,05817	-0,40137
AN0872		mitotic DNA replication preinitiation complex assembly	-0,97517	-0,88992	-2,28239	-1,2253	-0,67513	-2,46156
AN0960		mitotic spindle organization	0,150869	0,976027	-0,55985	-0,6742	0,88741	-0,42297

AN10008	<i>culD</i>	mitotic sister chromatid segregation	0,062941	1,133609	-0,15401	0,766204	0,173989	-0,17998
AN10111		mitotic spindle organization in nucleus	0,830909	-0,10405	2,15606	0,358626	-1,193	1,419631
AN10137		mitotic sister chromatid segregation	-3,36026	-2,70428	-1,74594	-1,07008	-3,49355	-1,93697
AN10225		mitotic sister chromatid segregation	-1,66431	-1,6702	-2,89038	-1,07939	-1,5787	-3,126
AN10253		mitotic sister chromatid cohesion	-0,21095	-0,62669	-0,1327	-0,11881	0,169835	0,314957
AN1026		mitotic spindle organization in nucleus	-0,3164	-0,88226	-0,03417	0,263144	-0,34514	-0,16253
AN10336		mitotic chromosome condensation	1,899655	1,598249	-1,24719	0,536818	1,274531	-1,28094
AN10516	<i>grrA</i>	G1/S transition of mitotic cell cycle	0,690413	0,255861	-0,59104	0,151933	0,306079	-0,85226
AN10635	<i>sepB</i>	Okazaki fragment processing involved in mitotic DNA replication	-0,9663	-0,61808	-1,44503	-0,97265	-0,62253	-1,27985
AN10755		mitotic DNA replication initiation	-2,98073	-1,59292	-2,8464	-1,51532	-0,6407	-2,1535
AN10956	<i>esa1</i>	mitotic sister chromatid segregation	1,580801	0,295623	0,231909	-0,05665	0,279355	0,158132
AN11055		G2/M transition of mitotic cell cycle	0,643391	0,026303	0,479984	-0,54246	-0,10575	0,494469
AN11059		cellular bud site selection	0,048177	-0,0343	-0,01284	0,012187	-0,16896	0,008488
AN11071		barrier septum assembly	1,792154	1,345994	1,63555	1,016188	1,253426	2,218999
AN11101	<i>gin4</i>	morphogenesis checkpoint	0,186121	0,354891	5,058591	-0,14931	0,131093	3,576809
AN11344		mitotic spindle organization in nucleus	-0,53822	-0,5849	-0,65678	-0,76181	-1,21839	-0,94148
AN1170	<i>clrD</i>	attachment of mitotic spindle microtubules to kinetochore	-0,0702	-0,57559	-0,54924	-0,29503	-0,26972	-0,44827
AN1171	<i>kin1</i>	mitotic cytokinesis, site selection	-0,29783	-0,00149	-0,92991	0,85065	0,061659	-0,46793
AN11721		Okazaki fragment processing involved in mitotic DNA replication	-1,10528	-0,20014	-1,39252	-0,51133	0,565309	-0,81801
AN1182	<i>benA</i>	mitotic sister chromatid segregation	-2,98237	-1,049	-0,6278	-1,37365	-0,21187	0,092787
AN1191	<i>sumO</i>	mitotic sister chromatid segregation	-0,05496	0,369125	1,201838	0,136576	0,039039	0,88627
AN1207		mitotic DNA replication checkpoint	-0,52073	-0,52898	-1,2076	-1,2293	-0,31551	-1,60821
AN12161		intra-S DNA damage checkpoint	-0,34233	-0,1927	-0,90781	-0,63282	-0,52191	-1,12843
AN1255		mitotic sister chromatid segregation	-0,4717	-0,45337	-0,73913	-0,30552	-0,36234	-0,21823
AN1286		mitotic sister chromatid segregation	-1,6994	-0,89608	-1,76901	-0,66884	0,085889	-0,81348
AN1324	<i>budA</i>	bipolar cellular bud site selection	-0,06001	0,258063	0,276845	0,175177	0,365127	0,560758
AN1335		mitotic sister chromatid segregation	-0,20164	0,774548	-0,30645	0,346781	0,517344	-0,27059
AN1394	<i>aspD</i>	mitotic cytokinesis	-3,26325	-1,68669	-1,25114	-1,6117	-1,69437	-0,828
AN1398		mitotic spindle organization in nucleus	-0,41229	-0,60875	0,334637	-0,53873	-0,59148	-0,01342
AN1546		regulation of transcription involved in G2/M transition of	0,119515	0,812753	0,361255	-0,01248	0,994419	0,865501

AN1560	<i>plkA</i>	mitotic spindle elongation	-2,79732	-2,97327	-0,8804	-0,72587	-1,83155	-0,00643
AN1779	<i>nimO</i>	maintenance of mitotic sister chromatid cohesion, centromeric	-1,38935	-0,38471	-1,15167	-0,39536	-0,14255	0,192113
AN1875		mitotic cell cycle	2,778565	0,769587	0,730188	-0,66606	-0,2469	0,172892
AN1905	<i>hepA</i>	mitotic sister chromatid cohesion	-2,43472	-1,99578	-1,97652	-2,25734	-1,55954	-1,50988
AN1929		G2/M transition of mitotic cell cycle	-1,94482	-1,43967	-3,54716	-0,98121	-0,87635	-2,02443
AN2047	<i>CaM</i>	mitotic spindle assembly	-1,95312	-0,33297	0,479385	-0,15307	-0,14949	0,345621
AN2126		mitotic cytokinesis	-1,79275	0,10781	0,013301	0,504139	0,294392	0,745117
AN2128		microtubule bundle formation involved in mitotic spindle midzone assembly	-2,77134	-2,39269	-1,1733	-0,90922	-1,11309	0,05746
AN2143		mitotic sister chromatid cohesion	-0,80714	0,320061	-2,64733	0,062693	0,493363	-1,08759
AN2246	<i>gcn2</i>	mitotic G1 DNA damage checkpoint	-0,77387	-0,61587	0,28436	0,389733	-0,90702	-0,31453
AN2302	<i>sconC</i>	G1/S transition of mitotic cell cycle	-0,00497	1,193439	0,221338	0,199669	0,925246	-0,31932
AN2412	<i>cmkA</i>	G2/M transition of mitotic cell cycle	-0,74615	0,600879	-1,16993	0,156033	1,411716	-1,143
AN2417		signal transduction involved in mitotic DNA replication	-0,30912	-0,27461	-0,5411	-0,29942	-0,26963	-0,30986
AN2438		establishment of mitotic sister chromatid cohesion	0,867474	0,601863	1,27956	-0,04518	0,591421	0,972519
AN2439	<i>sldB</i>	mitotic spindle assembly checkpoint	0,075987	-0,22303	0,900813	-0,35618	-0,62274	1,239427
AN2484		mitotic actomyosin contractile ring assembly	-1,22544	0,011703	0,956071	0,443508	0,273021	0,643611
AN2511	<i>mad2</i>	mitotic spindle assembly checkpoint	-4,39848	-3,25828	-2,29089	-1,28665	-2,85653	-1,16242
AN2686		mitotic spindle organization in nucleus	-21746	-1,34202	-1,16687	-0,3262	-1,30687	-0,73628
AN2761		mitotic sister chromatid segregation	-0,21337	0,064675	0,722209	-0,03237	-0,08244	0,508412
AN2764		removal of RNA primer involved in mitotic DNA replication	-0,93721	-0,04624	-0,60069	-1,36676	-0,04583	-0,34717
AN2768		mitotic spindle organization in nucleus	1,729415	0,243444	1,207827	-0,24261	0,662818	1,260567
AN2772	<i>bimE</i>	mitotic nuclear division	-1,32651	-0,88727	-2,31155	-0,26658	0,148742	-0,78344
AN2848		mitotic nuclear division	0,132839	1,138818	1,251587	-0,05546	1,267557	0,835793
AN2854		positive regulation of transcription involved in G2/M transition of mitotic cell cycle	1,464907	0,373406	2,004791	-0,53608	0,796941	1,711315
AN2862		mitotic sister chromatid cohesion	-2,45647	-1,08703	-1,59053	-0,9941	-0,89744	-0,78964
AN2963		mitotic sister chromatid cohesion	-2,06505	-0,68859	-1,36963	-1,09169	-1,37944	-1,34294
AN2969		mitotic DNA replication checkpoint	-2,26653	-0,46704	0,453391	-1,34081	-0,68603	0,425454
AN3062	<i>pcpA</i>	mitotic sister chromatid segregation	-1,14347	-0,70105	-1,38979	-1,28138	-0,62763	-0,99948
AN3067		mitotic sister chromatid cohesion	-2,84284	-1,19747	-3,72469	-1,29211	-0,61278	-2,52903

AN3118		intra-S DNA damage checkpoint	0,752292	0,112223	0,182829	-0,30636	0,175915	-0,00612
AN3124		mitotic spindle elongation	-4,33004	-3,43235	-2,60592	-1,05815	-2,35076	-1,15713
AN3154	<i>rgdA</i>	positive regulation of transcription involved in G1/S transition of mitotic cell cycle	-0,93029	-0,23388	-2,65632	-1,19618	0,111526	-2,77426
AN3156		mitotic G1 DNA damage checkpoint	-0,50327	-0,60149	0,389391	-0,86691	-1,32448	0,615724
AN3363	<i>bimC</i>	mitotic spindle midzone assembly	-1,47676	-1,83157	-2,00941	-0,50195	-1,83427	-1,45185
AN3372	<i>scaA</i>	mitotic G2 DNA damage checkpoint	1,343176	1,16704	-1,08139	0,403601	1,209782	-2,10847
AN3373		DNA damage checkpoint	2,33189	2,358927	1,057073	0,915705	1,681299	0,073839
AN3437	<i>apsB</i>	attachment of mitotic spindle microtubules to kinetochore	-0,06083	-0,68962	-2,57362	-0,63482	-0,48679	-2,38055
AN3450	<i>cdc7</i>	G1/S transition of mitotic cell cycle	0,035424	-0,45754	0,048389	-0,16889	-0,77858	-0,10873
AN3451		mitotic chromosome condensation	-1,34862	-1,43496	-1,61373	-0,77892	-2,19101	-1,62074
AN3579		mitotic spindle elongation	0,15862	0,111952	-0,42494	-0,23793	-0,54016	-0,69306
AN3619	<i>sldI</i>	intra-S DNA damage checkpoint	0,860602	1,357031	0,654958	0,700611	0,916022	-0,03982
AN3620		mitotic G2 DNA damage checkpoint	-153472	0,244987	1,2783	-0,58826	1,062006	1,409393
AN3622	<i>rsgB</i>	cellular bud site selection	-0,50895	-0,65315	-0,67137	-0,55981	-0,30044	-0,48916
AN3648	<i>nimE</i>	correction of merotelic kinetochore attachment, mitotic	-1,85414	-1,3727	-2,52902	-0,52801	-0,05019	-0,7917
AN3666		mitotic DNA replication initiation	-0,26159	0,092676	1,242401	-0,03658	0,203504	0,735204
AN3710		attachment of mitotic spindle microtubules to kinetochore	0,326777	0,227637	2,140954	0,317039	0,62733	2,190882
AN3729	<i>fksA</i>	primary cell septum biogenesis	-0,40722	-0,33086	-0,55626	0,143424	0,239524	0,112631
AN3735		axial cellular bud site selection	-0,78644	0,180583	-1,34158	0,434457	0,149446	-1,07139
AN3910		mitotic sister chromatid segregation	-1,85542	-1,83003	-1,65076	-0,6337	-0,90978	-0,47266
AN3941	<i>nimT</i>	G2/M transition of mitotic cell cycle	-1,98362	-1,27962	-1,85299	-0,42614	-0,23196	-0,71601
AN3946	<i>sldA</i>	attachment of mitotic spindle microtubules to kinetochore	-3,59408	-3,34061	-1,80165	-0,86928	-2,74942	-1,00516
AN4182	<i>nimX</i>	G1/S transition of mitotic cell cycle	-2,43976	-1,22134	-2,62319	-0,42792	-0,85062	-1,41292
AN4265		mitotic chromosome condensation	-1,94096	-0,54667	-0,52998	-0,36999	0,207011	0,069031
AN4270		axial cellular bud site selection	0,619878	0,264169	-0,22618	0,099316	0,624178	0,058495
AN4279	<i>chkB</i>	intra-S DNA damage checkpoint	-0,71181	-0,63444	-0,40675	-1,31216	-0,27807	-0,31827
AN4360		establishment of mitotic sister chromatid cohesion	-0,01452	0,246047	0,1842	0,269274	0,623057	0,458574
AN4399	<i>ubcN</i>	mitotic spindle elongation	0,009903	0,416099	0,631667	-0,51415	-0,06459	0,52697
AN4411		mitotic sister chromatid segregation	0,465991	0,405264	0,652543	0,222606	0,763504	0,882734
AN4417	<i>ndc1</i>	mitotic spindle assembly	-0,98065	-1,40181	-1,99732	-0,95287	-0,47885	-1,59749

AN4493	<i>rpdA</i>	regulation of transcription involved in G1/S transition of mitotic cell cycle	0,447639	0,443777	0,18605	-0,48267	0,645989	0,780691
AN4501	<i>artA</i>	DNA damage checkpoint	-1,20552	-0,19302	-0,68758	-0,37419	0,411489	-0,10371
AN4513	<i>kipB</i>	attachment of mitotic spindle microtubules to kinetochore	-2,70617	-2,77901	-3,19556	-0,69403	-2,22713	-1,96658
AN4555		mitotic sister chromatid segregation	-1,51771	-1,22094	-1,21436	-1,28515	-2,15034	-2,03065
AN4564	<i>teaA</i>	mitotic actomyosin contractile ring localization	-0,59911	-0,74191	-2,78057	-0,43183	-0,24712	-1,8298
AN4571		intra-S DNA damage checkpoint	-1,0285	-0,65973	-0,8049	-0,77982	-0,25539	-0,5936
AN4597		mitotic chromosome condensation	-1,84197	-1,43423	-0,64376	-0,48246	-1,0864	-0,01518
AN4612		mitotic spindle organization in nucleus	0,628245	0,035427	1,567081	0,360633	0,105919	1,488716
AN4667	<i>aspA</i>	mitotic cytokinesis	-2,53741	-1,36349	-1,6712	-1,18188	-0,98756	-0,53792
AN4678		establishment of mitotic sister chromatid cohesion	0,856989	-0,13643	-0,46641	-0,37437	-0,52942	-0,78213
AN4685		cellular bud site selection	-2,13788	-1,60247	-2,96655	-0,9521	-2,87033	-3,62806
AN4706	<i>myoB</i>	mitotic cytokinesis	-2,75785	-1,91746	-2,19995	-0,75984	-1,51628	-1,40394
AN4790	<i>rrpB</i>	mitotic sister chromatid segregation	0,075757	0,004103	0,985824	-0,0946	0,258802	0,889064
AN4804		attachment of mitotic spindle microtubules to kinetochore	-0,93898	0,484274	0,897774	0,00583	-0,05434	0,857902
AN4862	<i>ranGAP</i>	mitotic sister chromatid segregation	0,73389	0,187706	2,425319	-0,68414	-0,21524	1,858334
AN4867	<i>gcpC</i>	mitotic spindle assembly	-0,82821	0,364919	0,194912	-0,15809	-0,2658	-0,05983
AN4961		mitotic spindle organization in nucleus	-0,5182	-0,89406	0,574684	-0,02305	-0,8778	0,130017
AN4963		mitotic actomyosin contractile ring localization	-1,10549	-1,7956	-0,85401	0,267806	0,51419	-1,02155
AN4969	<i>ndc80</i>	attachment of mitotic spindle microtubules to kinetochore	-1,04518	-0,36125	-1,27158	-0,47658	-0,49884	-0,74271
AN4996		mitotic sister chromatid segregation	-0,48382	-0,14715	-1,23246	-0,35622	0,435263	-0,23019
AN4997		mitotic cytokinesis	-0,56729	-1,00354	-0,375	-0,33923	-0,24692	0,023174
AN5057	<i>cdcA</i>	correction of merotelic kinetochore attachment, mitotic	-2,69865	-2,95897	-2,17979	-0,89765	-1,94041	-0,86632
AN5195		axial cellular bud site selection	0,246338	0,652061	1,796668	-0,39749	0,281619	0,850847
AN5406	<i>top2</i>	mitotic sister chromatid separation	-2,53896	-2,03432	-2,06423	-0,68221	-1,86805	-1,34604
AN5483		mitotic DNA replication maintenance of fidelity	0,00267	0,33279	0,658034	0,059716	0,313655	0,59141
AN5494	<i>chkA</i>	mitotic G2 DNA damage checkpoint	-0,71586	0,031637	-0,08814	0,288305	-0,52487	-0,11578
AN5517	<i>fbxB</i>	G1/S transition of mitotic cell cycle	0,435287	0,475576	0,531547	0,100617	0,204124	0,452054
AN5518		barrier septum assembly	0,37721	0,461767	1,978007	-0,27315	0,36467	2,007
AN5521	<i>alpA</i>	attachment of mitotic spindle microtubules to kinetochore	-0,94299	-0,26896	-1,14081	-0,40132	-0,19164	-0,4273

AN5574		mitotic DNA replication initiation	-0,17929	-0,22768	1,076448	-0,12281	-0,28533	1,785818
AN5618	<i>cdc31</i>	mitotic spindle pole body duplication	-1,36831	-0,50809	-0,82547	-0,67066	-0,04405	0,275936
AN5631		G1/S transition of mitotic cell cycle	0,726875	0,386128	-0,95654	0,949526	0,94735	-0,21778
AN5676		mitotic DNA replication checkpoint	-2,26509	-0,94054	-3,76084	-1,67238	-0,66307	-4,18922
AN5686	<i>tpmA</i>	mitotic cytokinesis	-2,58228	-1,02777	0,307819	-0,62812	-1,40618	0,030974
AN5778		mitotic cytokinesis	-0,82001	0,004689	0,659344	-0,00138	-0,38796	0,529191
AN5789		cellular bud site selection	-0,60861	-2,49865	-2,29343	-2,27696	-3,771	-1,94211
AN5803	<i>fimA</i>	mitotic actomyosin contractile ring assembly	-0,51349	-0,34439	-0,74856	-0,24258	-1,07908	-0,63248
AN5815		correction of merotelic kinetochore attachment, mitotic	-4,47517	-3,92799	-1,44406	-1,53773	-4,30871	-1,19682
AN5822	<i>ankA</i>	G2/M transition of mitotic cell cycle	-0,19524	-0,45961	-1,2794	-0,59047	0,449815	-0,40769
AN5873	<i>gcpB</i>	mitotic spindle assembly	-0,18087	0,039306	0,041819	-0,06819	0,324461	0,886074
AN5885	<i>agsA</i>	primary cell septum biogenesis	-0,33497	-1,42542	-0,31655	-0,93111	-3,55528	-3,06736
AN5899	<i>smcB</i>	mitotic chromosome condensation	-2,3045	-1,58083	-2,7455	-0,72524	-1,76141	-1,9643
AN5910		regulation of transcription involved in G1/S transition of mitotic cell cycle	-1,13882	-0,85517	-2,93111	-0,25136	-0,18176	-1,26503
AN6044	<i>npkA</i>	intra-S DNA damage checkpoint	1,69976	1,179093	1,01048	0,851995	1,292051	1,466045
AN6069		Okazaki fragment processing involved in mitotic DNA replication	1,128889	2,554592	-0,6228	0,611502	1,613978	-0,26949
AN6070		mitotic DNA replication initiation	-1,76362	-1,50431	-3,16237	-1,44506	-0,57665	-2,27592
AN6114		synthesis of RNA primer involved in mitotic DNA replication	0,107628	0,420715	-0,93076	0,277518	-0,00536	-0,41391
AN6138	<i>bimA</i>	mitotic sister chromatid segregation	-0,49599	-0,45863	0,813817	-0,92305	-0,41839	0,24602
AN6147		DNA damage checkpoint	-0,70823	-0,39637	-1,06558	-0,31063	-0,11021	-0,85039
AN6303	<i>uvsF</i>	mitotic DNA replication	0,68036	1,236536	-1,20225	-0,50614	0,255678	-1,85121
AN6340	<i>kfpA</i>	mitotic spindle elongation	-3,74468	-2,94627	-2,16731	-0,50694	-2,21658	-0,86857
AN6359	<i>sconB</i>	regulation of transcription involved in G1/S transition of mitotic cell cycle	0,799417	-0,02572	0,308214	0,056473	0,480018	0,746885
AN6364	<i>sudA</i>	mitotic sister chromatid cohesion	-2,17798	-0,39302	-1,29088	-1,01438	-0,54342	-0,87502
AN6391	<i>pfpA</i>	G1/S transition of mitotic cell cycle	-0,50733	-0,39114	-0,57329	0,480045	0,658836	0,363643
AN6505	<i>rcoA</i>	negative regulation of transcription from RNA polymerase II promoter during mitosis	0,492084	-0,14449	0,881612	0,079958	0,172322	0,915968

AN6523	<i>sepA</i>	establishment of mitotic spindle orientation	0,579685	0,223749	-1,36102	0,169188	0,88644	-0,05818
AN6542	<i>actA</i>	mitotic actomyosin contractile ring assembly	-0,85427	-0,18435	-0,30875	-0,628	0,526653	0,359067
AN6553		establishment of mitotic sister chromatid cohesion	0,611695	-0,19538	-1,48587	0,216827	0,309889	-0,99598
AN6574		mitotic G1 DNA damage checkpoint	-0,08272	-0,1667	0,396355	-0,75834	-0,42098	0,059649
AN6600		mitotic sister chromatid segregation	-2,54299	-1,70616	-1,90941	-1,49297	-1,94665	-0,86246
AN6611		intra-S DNA damage checkpoint	-0,14284	0,238825	0,734883	-0,03591	0,149172	1,156676
AN6616	<i>nuvG</i>	intra-S DNA damage checkpoint	-2,25471	-1,34746	-0,28225	-0,66461	-1,62264	-0,72422
AN6685		cellular bud site selection	-0,81809	-0,22652	-1,19929	-0,46302	-0,01162	-1,1123
AN6687		mitotic sister chromatid segregation	-1,01036	0,060785	0,060502	-1,00054	0,256721	0,442586
AN6688	<i>aspB</i>	mitotic cytokinesis	-1,82134	-0,68415	-1,44526	-0,45448	0,182766	-0,16069
AN6689		mitotic cytokinesis, site selection	-0,73164	-0,36904	-0,61362	-0,23903	0,330053	-0,06472
AN6705		G1/S transition of mitotic cell cycle	-0,58278	-0,43667	-0,29038	-0,68942	0,023522	0,762679
AN6732		mitotic actomyosin contractile ring assembly actin filament organization	-2,50321	-1,87788	-0,66113	-0,72066	-2,04964	-0,47854
AN6896		mitotic DNA replication checkpoint	-1,68686	-0,8968	-2,03176	-0,73745	-1,1408	-1,86044
AN6975	<i>uvsB</i>	mitotic G2 DNA damage checkpoint	-0,96212	0,148782	0,28283	-0,28801	0,23332	0,718312
AN7007		mitotic DNA replication checkpoint	-2,04072	-0,95601	-3,70851	-1,51468	-1,26419	-3,51811
AN7206	<i>spgA</i>	exit from mitosis	-0,37039	0,409319	-0,20774	0,740051	1,14676	0,916899
AN7254		mitotic spindle disassembly	1,788927	2,030778	1,234009	1,089803	2,056613	1,616265
AN7296	<i>bimD</i>	mitotic sister chromatid cohesion	-2,47007	-1,21604	-2,49102	-0,59327	-0,27484	-1,16419
AN7309	<i>uvsH</i>	DNA damage checkpoint	-0,22923	-0,22197	-0,78591	-0,72457	0,237978	-0,50895
AN7423		mitotic DNA replication	-0,71096	0,318483	-0,75673	-0,90047	0,30335	-0,84795
AN7439		mitotic DNA replication initiation	-1,03529	-0,55157	-0,88509	-1,27385	-0,77873	-0,79749
AN7440		mitotic sister chromatid segregation	-0,62387	-0,69637	-1,87755	-1,51644	-1,09517	-1,95019
AN7441		mitotic sister chromatid biorientation	-0,99701	-0,59228	-0,89277	-1,24327	-0,72066	-0,38247
AN7465		mitotic sister chromatid cohesion	-0,36684	-0,65932	0,432755	-0,14225	-0,5911	0,660156
AN7499		mitotic sister chromatid cohesion	0,16915	0,296432	-2,48617	-0,09025	0,553988	-1,54336
AN7562		barrier septum assembly	0,560683	1,129967	0,730179	0,196248	0,286528	0,240948
AN7576		barrier septum assembly	-1,0129	0,039225	-1,72811	-0,5117	-0,02121	-0,55965
AN7707		mitotic actomyosin contractile ring assembly	-1,39466	0,272479	0,600947	-0,75304	-0,1137	-0,41709
AN8056		mitotic chromosome condensation	-1,881	-1,35482	-1,00058	-0,07847	-0,90454	0,103072

AN8064		DNA damage checkpoint	-1,3407	-0,71082	-1,93303	-0,46109	-0,77562	-1,37901
AN8182	<i>aspC</i>	mitotic cytokinesis	-2,0561	-0,69526	-1,0973	-1,6968	-0,94151	-0,79724
AN8187		mitotic sister chromatid segregation	-3,15079	-1,6993	-0,3079	-1,97188	-195864	-0,27211
AN8211		mitotic sister chromatid segregation	-0,4522	-0,61758	-1,6667	0,150401	0,907204	-0,14262
AN8261	<i>phoA</i>	regulation of transcription involved in G1/S transition of mitotic cell cycle	0,795445	0,451791	1,461934	-0,33276	-0,10995	1,020439
AN8282		mitotic sister chromatid segregation	-0,81084	-0,50942	-0,19607	-0,42786	-0,50392	0,10545
AN8751	<i>sidB</i>	barrier septum assembly	0,006051	-0,11274	-0,98266	0,111055	0,822948	-0,18869
AN8783	<i>bimB</i>	mitotic spindle organization	-2,59179	-2,40032	-2,63376	-0,86599	-1,84734	-152637
AN8820	<i>cnaA</i>	G1/S transition of mitotic cell cycle	-0,04976	0,201985	-0,34856	0,515461	0,294902	0,494189
AN8831	<i>ampB</i>	mitotic actomyosin contractile ring assembly	0,635772	0,921262	-0,26153	0,023282	0,765901	-0,46412
AN8844	<i>rbxA</i>	G1/S transition of mitotic cell cycle	-0,03112	-0,15109	-0,2501	0,046774	-0,34124	-0,46466
AN8857		cellular bud site selection	0,141045	0,261685	1,862422	-0,45019	0,102916	1,272084
AN8862	<i>myoV</i>	establishment of mitotic spindle orientation	-1,19556	-0,71081	-1,32024	-1,16989	-1,16345	-1,01021
AN8876		mitotic G2 DNA damage checkpoint	0,442231	1,089709	0,327185	-0,84452	-0,15814	-0,09064
AN9435		mitotic nuclear division	-0,52873	0,676708	-0,06615	-0,29172	0,091781	-0,04741
AN9463		mitotic actomyosin contractile ring localization	-0,78309	-1,39277	-1,53368	-0,11525	-1,23955	-0,98663
AN9467	<i>parA</i>	cellular bud neck septin ring organization	-0,78752	-0,44206	-0,80848	0,366769	-0,04535	0,2669
AN9504	<i>nimA</i>	G2/M transition of mitotic cell cycle	-1,11537	-1,03236	-0,92723	-0,51722	-0,86297	-0,50483
Frequency in the up-regulated gene group:			3/636	6/686	3/493	1/546	0/504	3/449
Background frequency			218/10390					
Significant enrichment in the studied gene group in compare to the background frequency (Fisher's exact test, p<0.05):			NO	NO	NO	NO	NO	NO
Significant difference between the <i>LatfA</i> and the appropriate control strain (Fisher's exact test, p<0.05):						NO	YES	NO
Frequency in the down-regulated gene group:			41/653	25/645	22/357	14/557	12/638	11/525
Background frequency			218/10390					
Significant enrichment in the studied gene group in compare to the background frequency (Fisher's exact test, p<0.05):			YES	YES	YES	NO	NO	NO
Significant difference between the <i>LatfA</i> and the appropriate control strain (Fisher's exact test, p<0.05):						YES	YES	YES

„Antioxidáns enzim” gének

Gén ID	Gén név	AspGD leírás	Ismert/feltételezett funkció	Microarray data (log ₂ R)					
				Kontroll törzs			<i>ΔatfA</i> törzs		
				MSB	<i>t</i> BOOH	diamid	MSB	<i>t</i> BOOH	diamid
AN8637	<i>catA</i>	Conidia-specific catalase; predicted role in gluconic acid and gluconate metabolism	catalase	2,53202	-0,26326	-0,08009	0,024292	-0,03543	0,082213
AN9339	<i>catB</i>	Hyphal catalase with a predicted role in gluconic acid and gluconate metabolism	catalase	1,577687	1,904128	0,963041	2,570815	2,530858	2,080187
AN5918	<i>catC</i>	Putative catalase with a predicted role in gluconic acid and gluconate metabolism	catalase	0,250177	-1,0757	2,423565	0,67431	-1,51849	2,59659
AN8553		Putative catalase with a predicted role in gluconic acid and gluconate metabolism	catalase	-0,27878	-0,48954	-0,15259	0,390625	-0,06005	-0,02515
AN7388	<i>cpeA</i>	Putative catalase-peroxidase with a predicted role in gluconic acid and gluconate metabolism; protein also identified as laccase II which is expressed during sexual development	catalase-peroxidase	-2,1329	0,578024	0,593046	0,539404	-1,9138	-0,45364
AN7924		Has domain(s) with predicted peroxidase activity	peroxidase	0,403601	1,74018	-0,05628	0,637497	1,898512	0,183602

AN8395	Has domain(s) with predicted peroxidase activity	peroxidase	0,450605	-0,00233	0,128414	-0,11252	-0,02863	-0,03562
AN1252	Has domain(s) with predicted peroxiredoxin activity and role in oxidation-reduction process	peroxidase	0,13723	-0,04916	-0,0993	-0,00094	0,1633	0,03041
AN4023	Has domain(s) with predicted peroxiredoxin activity and role in oxidation-reduction process	peroxidase	-1,94212	-1,33755	0,345409	-0,38981	-0,7858	0,188673
AN5232	Has domain(s) with predicted peroxiredoxin activity and role in oxidation-reduction process	peroxidase	0,234357	-0,22394	0,203479	2,13982	0,101308	0,790428
AN9464	Has domain(s) with predicted electron carrier activity, protein disulfide oxidoreductase activity and role in cell redox homeostasis	glutaredoxin	-0,79922	-0,5813	0,666651	0,042587	-0,38644	0,958503
AN4215	Ortholog(s) have glutathione disulfide oxidoreductase activity, glutathione peroxidase activity, glutathione transferase activity and role in glutathione metabolic process, pathogenesis, removal of superoxide radicals	glutaredoxin	0,843355	0,32699	2,011038	1,088302	0,713436	1,605541
AN4304	Ortholog(s) have glutathione disulfide oxidoreductase activity, role in cellular response to oxidative stress, response to osmotic stress and	glutaredoxin	1,150267	0,727992	1,098253	0,223376	0,582679	0,881764

		mitochondrial matrix localization							
AN7567		Ortholog(s) have RNA polymerase II activating transcription factor binding, glutathione disulfide oxidoreductase activity	glutaredoxin	2,308464	1,201388	2,397365	1,582511	1,401377	1,748657
AN2846	<i>gpxA</i>	Putative glutathione peroxidase with a predicted role in glutathione biosynthesis; protein induced by farnesol	glutathione peroxidase	4,080624	4,276949	3,964027	3,293896	3,520865	3,551213
AN0629		Ortholog(s) have glutathione peroxidase activity, glutathione transferase activity, role in glutathione metabolic process and endoplasmic reticulum, mitochondrial outer membrane, plasma membrane localization	glutathione peroxidase/S-transferase	0,480622	0,888055	0,620296	-0,2186	1,681555	0,786785
AN0932	<i>glrA</i>	Putative glutathione oxidoreductase with a predicted role in glutathione biosynthesis	glutathione reductase	3,025328	1,675646	1,976961	2,461164	2,063219	1,701423
AN10379	-		glutathione-S-transferase	0,677646	-0,74713	-0,73874	1,014031	-0,40619	-0,56462
AN5831	-		glutathione-S-transferase	6,246743	2,906293	3,316331	3,613966	3,025294	2,046538
AN0629		Ortholog(s) have glutathione peroxidase activity, glutathione transferase activity, role in	glutathione-S-transferase	0,480622	0,888055	0,620296	-0,2186	1,681555	0,786785

		glutathione metabolic process and endoplasmic reticulum, mitochondrial outer membrane, plasma membrane localization							
AN3255		Predicted glutathione peroxidase; predicted secondary metabolism gene cluster member	glutathione-S-transferase	-0,14027	-0,86068	-0,23084	-0,74151	-1,35271	-0.67131
AN6024	<i>gstB</i>	Protein with glutathione S-transferase and glutathione peroxidase activities; intracellular, menadione stress-induced protein	glutathione-S-transferase	1,286058	-0,04989	0,746233	2,628464	-1,08328	-0.52259
AN10273	<i>gst3</i>	Putative glutathione S-transferase; intracellular, menadione stress-induced protein	glutathione-S-transferase	2,961467	0,23568	1,724192	1,648779	-0,46451	0.97618
AN4905	<i>gstA</i>	theta class glutathione S-transferase; involved in resistance to a variety of xenobiotics and metals; confers susceptibility to the systemic fungicide carboxin	glutathione-S-transferase	3,955239	1,930915	3,808343	3,095397	0,130389	2.660196
AN10223		Putative 1-Cys peroxiredoxin; intracellular; protein abundance decreased by menadione stress; expression reduced after exposure to farnesol	peroxiredoxin	-2,46667	-1,17312	0,607526	-0,02716	-2,2495	0,8888
AN3973		Putative peroxiredoxin	peroxiredoxin	-0,10304	-0,51897	0,816111	-0,03877	0,209461	0,687216
AN0241	<i>sodA</i>	Cu/Zn-superoxide dismutase;	Cu/Zn-superoxide	0,054861	0,341781	1,073512	0.459504	0,143187	0,477517

		induced under iron starvation and repressed under copper starvation	dismutase							
AN5577	<i>sodB</i>	Manganese-superoxide dismutase	Mn-superoxide dismutase	0,832709	0,364484	1,380569	0,720381	0,190703	0,664066	
AN1131		Putative cytosolic Cu/Zn superoxide dismutase; transcript repressed by light in developmentally competent mycelia	Cu/Zn-superoxide dismutase	-3,96675	-2,93824	-3,44807	-0,79228	-2,5637	-2,08831	
AN0785	<i>sodM</i>	Putative manganese superoxide dismutase	Mn-superoxide dismutase	-0,17347	0,000807	0,775274	-0,08003	0,271384	0,742917	
AN8080		Ortholog(s) have thioredoxin peroxidase activity, role in cell redox homeostasis, cellular response to oxidative stress, response to metal ion and hyphal cell wall, peroxisome, plasma membrane, yeast-form cell wall localization	thioredoxin peroxidase	-2,30223	-1,252	-1,0538	0,48857	-1,08574	-0,63763	
AN8218	<i>trxB</i>	Putative thioredoxin reductase	thioredoxin reductase	-5,86817	-3,72011	-5,38949	-3,62077	-3,74891	-4,81686	
AN3581	<i>trxR</i>	Thioredoxin reductase with a predicted role in pyrimidine metabolism; putative flavoprotein; intracellular, menadione stress-induced protein; transcripts of two different sizes have been detected	thioredoxin reductase	3,306954	2,579743	2,909812	3,122002	3,481354	4,09749	
AN0170	<i>trxA</i>	Thioredoxin; predicted role in cell	thioredoxin	1,040323	0,758582	1,424117	1,948051	1,234892	1,312314	

		redox homeostasis; required for conidiation; expression upregulated after exposure to farnesol							
AN8692	<i>prxA</i>	Thioredoxin-dependent peroxidase; intracellular; PRX5-like domain; highly similar to the allergen Aspf3 from related fungi; menadione stress-repressed protein; osmoadaptation-induced protein; repressed by starvation-induced autophagy	thioredoxin peroxidase	2,086116	1,714789	2,120148	2,171866	2,305055	2,357844
AN10220	<i>ccp1</i>	Putative cytochrome c peroxidase; intracellular; protein abundance decreased by menadione stress	cytochrome c peroxidase	2,754701	2,267977	3,410876	2,331556	1,654761	3,250162
AN5440		Putative cytochrome c peroxidase; expression upregulated after exposure to farnesol	cytochrome c peroxidase	2,861801	3,225285	0,163839	2,527085	4,634726	2,170015
Frequency in the up-regulated gene group:				11/636	10/686	7/493	14/546	6/504	6/449
Background frequency				38/10390					
Significant enrichment in the studied gene group in compare to the background frequency (Fisher's exact test, p<0.05):				YES	YES	YES	YES	YES	YES
Significant difference between the <i>ΔatfA</i> and the appropriate control strain (Fisher's exact test, p<0.05):									
Frequency in the down-regulated gene group:				5/653	2/645	2/357	1/557	3/638	1/525
Background frequency				38/10390					
Significant enrichment in the studied gene group in compare to the background frequency (Fisher's exact test, p<0.05):				NO	NO	NO	NO	NO	NO
Significant difference between the <i>ΔatfA</i> and the appropriate control strain (Fisher's exact test, p<0.05):							NO	NO	NO

„Sziderofór bioszintézis” gének

			Microarray adatok (log ₂ R)					
Gén ID	Gén	GO term	Kontroll törzs			<i>ΔatfA</i> törzs		
			MSB	tBOOH	diamid	MSB	tBOOH	diamid
AN8770		positive regulation of siderophore biosynthetic process	-0,08165	0,340727	0,230363	0,615854	1,194173	1,021762
AN0608		siderophore biosynthetic process	0,324871	2,283974	-0,63525	0,66384	1,688017	-0,26688
AN0758		siderophore biosynthetic process	0,038288	-0,1808	-0,1255	-0,10966	0,348358	-0,0533
AN10080	<i>sidL</i>	siderophore biosynthetic process	-0,89664	-1,91524	-0,92944	0,341829	-1,08238	-1,35967
AN5823	<i>sidA</i>	siderophore biosynthetic process	1,749048	1,723496	-0,77914	0,78867	1,825104	0,157685
AN6234	<i>sidF</i>	siderophore biosynthetic process	-1,05251	1,486556	-0,43613	-0,01457	0,991004	0,332142
AN0607	<i>sidC</i>	ferricrocin biosynthetic process	-1,19233	-1,19922	-1,30227	-0,6339	-0,24937	-0,59782
AN0609	<i>sidI</i>	ferricrocin biosynthetic process	0,935103	4,9361	-0,128	2,524883	4,186023	-0,21142
AN6140	<i>npgA</i>	ferricrocin biosynthetic process	-0,15878	1,568819	1,392151	1,355626	0,933341	1,312084
AN8251	<i>hapX</i>	N',N'',N'''-triacetylfusarinine C biosynthetic process	2,123733	1,957743	0,981716	2,017706	2,198677	1,390373
AN6236	<i>sidD</i>	N',N'',N'''-triacetylfusarinine C biosynthetic process	-1,28359	1,671183	-0,851	-0,56831	1,903515	-0,90028
AN6235	<i>sidH</i>	N',N'',N'''-triacetylfusarinine C biosynthetic process	0,404323	1,708656	0,802602	-0,03833	1,946715	0,572034
AN10764		N',N'',N'''-triacetylfusarinine C biosynthetic process	-0,57438	0,765953	3,584462	0,119254	0,210486	2,608474
AN3817		N',N'',N'''-triacetylfusarinine C biosynthetic process	-1,25065	-1,29992	-1,60601	-0,64011	-0,8495	-0,79796
AN2855	<i>pacC</i>	N',N'',N'''-triacetylfusarinine C metabolic process	0,773313	1,760995	-2,08879	-0,15245	2,328345	-0,86964

Frequency in the **up-regulated** gene group:

Background frequency

Significant enrichment in the studied gene group in compare to the background frequency (Fisher's exact test, p<0.05):

Significant difference between the *ΔatfA* and the appropriate control strain (Fisher's exact test, p<0.05):

Frequency in the **down-regulated** gene group:

Background frequency

Significant enrichment in the studied gene group in compare to the background frequency (Fisher's exact test, p<0.05):

Significant difference between the *ΔatfA* and the appropriate control strain (Fisher's exact test, p<0.05):

„Vas-kén klaszter összeszerelő” gének

Gén ID	Gén	GO term	Microarray adatok (log ₂ R)					
			Kontroll törzs			<i>ΔatfA</i> törzs		
			MSB	tBOOH	diamid	MSB	tBOOH	diamid
AN0447		iron-sulfur cluster assembly	2,660729	0,65455	2,297478	-0,23069	0,426096	2,091939
AN10012		iron-sulfur cluster assembly	2,512621	0,57325	1,206166	0,481278	0,766282	1,48998
AN10237		iron-sulfur cluster assembly	0,834468	-1,84616	-0,86573	-0,8169	-1,03877	-0,96303
AN10584		iron-sulfur cluster assembly	1,476012	0,827408	1,55575	-0,28702	0,530505	0,961154
AN11060		iron-sulfur cluster assembly	2,067987	0,857735	1,169666	1,540315	0,642413	1,311387
AN12201		iron-sulfur cluster assembly	1,652846	-0,65052	0,809429	-0,77965	-0,53621	0,266399
AN1385		iron-sulfur cluster assembly	-0,14032	0,438476	0,554799	1,02527	-0,18029	0,563991
AN1407		iron-sulfur cluster assembly	1,873672	0,873282	3,173584	0,827527	0,18959	2,497271
AN1469		iron-sulfur cluster assembly	0,794075	0,104885	-0,04603	-0,49976	0,035039	0,530507
AN1986		iron-sulfur cluster assembly	0,136267	0,006146	0,291217	0,159473	0,689644	0,555213
AN2155		iron-sulfur cluster assembly	2,656725	1,078052	2,638548	0,274855	0,991459	2,144233
AN2508		[2Fe-2S] cluster assembly	2,062766	1,006821	0,843601	0,389177	1,078397	1,001497
AN3632		iron-sulfur cluster assembly	3,681724	2,37831	0,84156	1,646949	2,412409	0,541549
AN4297		iron-sulfur cluster assembly	-0,72899	-1,02321	-0,68944	-0,9127	-0,97096	-0,20696
AN4655		[2Fe-2S] cluster assembly	2,423446	1,395341	1,555911	2,38108	2,274038	2,358217
AN5953		iron-sulfur cluster assembly	2,2085	0,944911	1,809203	0,741036	1,491771	2,158264
AN8485		iron-sulfur cluster assembly	2,986721	2,048342	0,95415	2,090465	1,463512	1,23465

Frequency in the **up-regulated** gene group:

Background frequency

Significant enrichment in the studied gene group in compare to the background frequency (Fisher's exact test, p<0.05):

YES	NO	NO	YES	NO	NO
-----	----	----	-----	----	----

Significant difference between the *ΔatfA* and the appropriate control strain (Fisher's exact test, p<0.05):

Frequency in the **down-regulated** gene group:

Background frequency

Significant enrichment in the studied gene group in compare to the background frequency (Fisher's exact test, p<0.05):

NO	NO	NO	NO	NO	NO
----	----	----	----	----	----

Significant difference between the *ΔatfA* and the appropriate control strain (Fisher's exact test, p<0.05):

			NO	NO	NO
--	--	--	----	----	----

„Két-komponensű szignáltranszdukciós rendszer” gének

			Microarray adatok (log ₂ R)					
Gén ID	Gén név	GO term	Kontroll törzs			ΔatfA törzs		
			MSB	tBOOH	diamid	MSB	tBOOH	diamid
AN1800	<i>tcsB</i>	phosphorelay response regulator activity	1,449356	1,179032	-0,17323	1,26892	1,83781	-0,22252
AN2363	<i>hk-8-6</i>	phosphorelay response regulator activity	1,213499	0,439705	-1,69092	0,902009	0,86368	-1,10498
AN2581	<i>hk-8-1</i>	phosphorelay response regulator activity	1,918613	0,427624	-2,20767	0,396521	1,065991	-0,74009
AN3101	<i>phkB</i>	phosphorelay response regulator activity	1,286063	-0,59831	-1,86096	-0,39423	-0,28033	-1,21925
AN3102	<i>phkA</i>	phosphorelay response regulator activity	-0,37582	-0,54976	-0,97811	0,565708	0,663332	-0,19339
AN3214	<i>hk-8-5</i>	phosphorelay response regulator activity	0,509518	-0,3859	-1,21522	-0,12403	0,799719	-1,13528
AN4113	<i>hk-8-2</i>	phosphorelay response regulator activity	1,98928	-2,89575	-2,28219	0,415292	-0,95034	-1,70969
AN4447	<i>hk-9</i>	phosphorelay response regulator activity	0,529945	-0,1727	-0,25681	0,438052	-0,27278	0,068183
AN4479	<i>nikA</i>	phosphorelay response regulator activity	-0,58723	-0,45832	-1,41798	0,033471	0,178544	-0,63269
AN4818	<i>hk-8-4</i>	phosphorelay response regulator activity	0,317187	-0,9531	-0,8078	0,278215	0,173623	0,130022
AN5296	<i>tcsA</i>	phosphorelay response regulator activity	1,956396	1,418536	-0,2489	1,121185	1,378517	0,025084
AN6820	<i>hk-8-3</i>	phosphorelay response regulator activity	3,582754	-0,44323	-0,16874	0,568759	0,552803	0,494146
AN7945	<i>hk2</i>	phosphorelay response regulator activity	3,606028	0,082858	-0,50443	0,051349	0,094511	-0,02031
AN9008	<i>fphA</i>	phosphorelay response regulator activity	0,077454	0,336877	-0,04439	1,059758	0,644193	0,71941
AN9048	<i>hk-8-7</i>	phosphorelay response regulator activity	0,516806	0,524564	-0,99095	1,004839	0,500283	-0,43524
AN4134	<i>srrC</i>	phosphorelay response regulator activity	0,218828	-0,41353	0,520748	-0,31271	-0,19633	0,143931
AN7697	<i>sskA</i>	phosphorelay response regulator activity	0,078961	0,362892	-0,16793	0,238102	1,099949	-0,56049
AN2005	<i>ypdA</i>	osmosensory signaling via phosphorelay pathway	1,228537	-0,25128	-0,33044	-0,32663	-1,1273	-0,73912
Frequency in the up-regulated gene group:			4/636	0/686	0/493	0/546	0/504	0/449
Background frequency			18/10390					
Significant enrichment in the studied gene group in compare to the background frequency (Fisher's exact test, p<0.05):			YES	NO	NO	NO	NO	NO
Significant difference between the ΔatfA and the appropriate control strain (Fisher's exact test, p<0.05):						NO	NO	NO
Frequency in the down-regulated gene group:			0/653	1/645	0/357	0/557	0/638	0/525
Background frequency			18/10390					
Significant enrichment in the studied gene group in compare to the background frequency (Fisher's exact test, p<0.05):			NO	NO	NO	NO	NO	NO
Significant difference between the ΔatfA and the appropriate control strain (Fisher's exact test, p<0.05):						NO	NO	NO

„Nitrát felhasználási” gének

			Microarray adatok (log ₂ R)					
			Kontroll törzs			<i>ΔatfA</i> törzs		
Gén ID	Gén név	GO term	MSB	tBOOH	diamid	MSB	tBOOH	diamid
AN0399	<i>nrtB</i>	nitrate transmembrane transporter activity	-2,65594	-0,39351	-3,31373	1,528316	-1,70899	-4,30728
AN0947	<i>cnxABC</i>	nitrate reductase (NADPH) activity	0,056343	0,186207	-1,13818	0,326368	-0,35566	-0,76532
AN1006	<i>niaD</i>	nitrate reductase (NADPH) activity	-2,22867	-1,08058	-2,64802	0,908136	-1,67266	-2,73303
AN1007	<i>niiA</i>	nitrite reductase [NAD(P)H] activity	-1,58316	-1,26003	-2,18353	0,84751	-1,1701	-1,86186
AN1008	<i>crnA</i>	nitrate transmembrane transporter activity	-3,11913	-1,22512	-1,47727	1,848896	-0,93159	-0,40109
AN2327	<i>cnxF</i>	nitrate reductase (NADPH) activity	-0,0534	-0,788	-0,70601	-0,1657	-0,93203	-1,12595
AN3778	<i>cnxE</i>	nitrate reductase (NADPH) activity	-1,5463	-0,28834	-2,14618	0,497773	-0,94785	-1,82063
AN4841	<i>cnxH</i>	nitrate reductase (NADPH) activity	-0,63285	-0,29865	-0,39913	-0,00078	0,413628	0,052937
AN8058		nitrate assimilation	3,133975	-0,48817	-0,13073	-0,10541	-0,09235	0,362777
AN8168	<i>nmrA</i>	regulation of nitrate assimilation	0,060496	-0,30885	0,513147	0,159905	0,360453	0,987297
AN8449		nitrate assimilation	2,851649	-0,08877	-0,11297	0,380284	-0,23487	-0,10903
AN8647	<i>nitA</i>	nitrite uptake transmembrane transporter activity	-3,19103	-0,69979	-0,61665	0,783369	-0,09795	-0,54977
AN8667	<i>areA</i>	nitrate assimilation	0,483076	0,913811	-0,10712	-0,05605	1,571583	0,494472
AN9143	<i>cnxG</i>	nitrate reductase (NADPH) activity	-0,66841	-1,04678	0,657965	-0,90886	-0,10381	0,447047

Frequency in the **up-regulated** gene group:

2/636 0/686 0/493 2/546 0/504 0/449

Background frequency

14/10390

Significant enrichment in the studied gene group in compare to the background frequency (Fisher's exact test, p<0.05):

NO NO NO NO NO NO

Significant difference between the *ΔatfA* and the appropriate control strain (Fisher's exact test, p<0.05):

NO NO NO

Frequency in the **down-regulated** gene group:

4/653 0/645 2/357 0/557 0/638 2/525

Background frequency

14/10390

Significant enrichment in the studied gene group in compare to the background frequency (Fisher's exact test, p<0.05):

YES NO NO NO NO NO

Significant difference between the *ΔatfA* and the appropriate control strain (Fisher's exact test, p<0.05):

NO NO NO

„ER-tól Golgi készülékhez történő vezikulum transzport” gének

Gén ID	Gén név	GO term	Microarray adatok (log ₂ R)					
			Kontroll törzs			<i>ΔatfA</i> törzs		
			MSB	tBOOH	diamid	MSB	tBOOH	diamid
AN0170	<i>trxA</i>	ER to Golgi vesicle-mediated transport	1,040323	0,758582	1,424117	1,948051	1,234892	1,312314
AN0261	<i>sec23</i>	ER to Golgi vesicle-mediated transport	-2,18056	-0,08915	-0,54166	-0,0004	0,586876	0,175699
AN0411		ER to Golgi vesicle-mediated transport	-0,1104	-0,24645	-0,37052	-0,76181	-0,54535	-0,98513
AN0706		ER to Golgi vesicle-mediated transport	-1,05898	-0,18885	-1,65164	-0,66575	-0,71082	-1,28346
AN0922		ER to Golgi vesicle-mediated transport	-1,75504	-0,41319	-0,88462	-0,42867	-0,21632	-0,19648
AN10186		ER to Golgi vesicle-mediated transport	0,461876	0,260779	-0,30924	0,254006	-0,02178	-0,35805
AN10313		ER to Golgi vesicle-mediated transport	-0,92085	-1,14615	0,584593	-1,79896	-1,32233	-0,29228
AN1069		ER to Golgi vesicle-mediated transport	0,746211	0,304381	0,751009	-0,23163	1,575963	0,844585
AN10878		ER to Golgi vesicle-mediated transport	-0,31311	-0,11515	1,062052	-0,31555	-0,04318	0,602888
AN1117		ER to Golgi vesicle-mediated transport	-2,79708	-0,69068	-1,81174	-1,13295	-0,47458	-1,35773
AN11226		ER to Golgi vesicle-mediated transport	-2,10138	-1,31608	-0,28825	-2,18332	-1,23839	-0,75907
AN1126	<i>arfA</i>	ER to Golgi vesicle-mediated transport	-0,59144	-0,26205	0,110717	0,064438	0,248107	0,098157
AN11500		ER to Golgi vesicle-mediated transport	-1,46933	0,266423	-2,31339	0,515085	0,156174	-1,68484
AN1154		ER to Golgi vesicle-mediated transport	-2,75878	-1,00277	-0,74387	-1,28148	-0,65446	-0,6839
AN11715		ER to Golgi vesicle-mediated transport	0,517391	0,43008	0,381818	-0,49053	0,311071	0,173233
AN1845	<i>shrA</i>	ER to Golgi vesicle-mediated transport	-1,12924	-0,00294	-1,77663	-0,90163	0,15549	-1,39123
AN1980		ER to Golgi vesicle-mediated transport	-1,71984	-0,31853	-0,37639	0,223008	0,163442	0,293291
AN1981		ER to Golgi vesicle-mediated transport	-0,03411	0,220938	-0,30219	-0,39224	-0,67589	-0,39201
AN2222		ER to Golgi vesicle-mediated transport	-1,60098	-0,83992	2,369198	-1,32771	-1,17492	1,306346
AN3026	<i>copA</i>	ER to Golgi vesicle-mediated transport	-3,03285	-0,75074	-1,34665	-0,62071	0,270506	0,328907
AN3080		ER to Golgi vesicle-mediated transport	-2,95035	-1,0484	-3,90585	-0,43662	-0,48712	-2,37831
AN3720		ER to Golgi vesicle-mediated transport	-1,83196	-0,57504	-1,7537	-0,03234	0,331686	0,075288
AN3747		ER to Golgi vesicle-mediated transport	1,313804	-0,06256	0,243875	-0,26146	0,361656	0,605022
AN4165		ER to Golgi vesicle-mediated transport	-1,07948	-0,20802	2,439939	-0,75599	0,728409	1,739365
AN4281	<i>rabO</i>	ER to Golgi vesicle-mediated transport	-0,02192	0,372528	0,400219	-0,33917	0,596117	0,469241
AN4317	<i>sec13</i>	COPII-coated vesicle budding	-3,13129	-0,46553	-0,23097	-1,2887	-0,34608	0,153006

AN4446		ER to Golgi vesicle-mediated transport	-2,47905	-0,79566	-0,95223	-1,22864	-0,63002	-0,98634
AN4495		ER to Golgi vesicle-mediated transport	-1,09518	-0,76976	0,85523	-0,55417	-0,40413	0,951976
AN4886		ER to Golgi vesicle-mediated transport	-1,18685	-0,3069	0,520932	-0,3692	-0,74476	0,186562
AN5127		ER to Golgi vesicle-mediated transport	-0,37309	0,251705	-0,09732	-0,07943	0,352743	-0,00251
AN5131	<i>atgH</i>	ER to Golgi vesicle-mediated transport	0,287998	1,701173	1,520977	1,136414	1,244428	0,925906
AN5195		ER to Golgi vesicle-mediated transport	0,246338	0,652061	1,796668	-0,39749	0,281619	0,850847
AN5788		ER to Golgi vesicle-mediated transport	0,295994	0,232786	0,342705	-0,91582	0,121147	-0,10526
AN5915	<i>rerA</i>	ER to Golgi vesicle-mediated transport	-1,25132	-0,40627	0,023382	-0,71738	0,383747	-0,14514
AN5972		ER to Golgi vesicle-mediated transport	-2,97196	-0,50576	-1,46	-0,77062	0,137116	-0,38448
AN6033		ER to Golgi vesicle-mediated transport	-0,63902	0,013398	-0,29477	-0,13305	0,093908	0,143112
AN6257		ER to Golgi vesicle-mediated transport	-2,74867	-0,62609	-1,84077	-0,10696	0,220629	-0,62775
AN6709	<i>hypB</i>	ER to Golgi vesicle-mediated transport	-0,79462	-0,0059	-1,35845	0,065334	0,660482	-0,33005
AN6825		ER to Golgi vesicle-mediated transport	-0,09054	0,241735	0,483791	0,090595	0,069085	0,364213
AN7302		ER to Golgi vesicle-mediated transport	-3,24652	-0,88843	-0,4989	-1,12701	-1,00723	-0,3078
AN7679		ER to Golgi vesicle-mediated transport	-3,83036	-0,83851	-0,84011	-0,97159	-0,92203	-0,85037
AN8488		ER to Golgi vesicle-mediated transport	-0,76634	0,231558	1,203103	0,119321	-0,19462	0,708206
AN8828		ER to Golgi vesicle-mediated transport	0,294408	0,00553	1,865133	-0,40793	-0,33987	1,289817
AN9086		ER to Golgi vesicle-mediated transport	-1,85272	-0,30058	1,095395	-0,1558	-0,91305	0,586775

Frequency in the up-regulated gene group:	0/636	1/686	2/493	1/546	0/504	0/449
Background frequency	44/10390					
Significant enrichment in the studied gene group in compare to the background frequency (Fisher's exact test, p<0.05):	NO	NO	NO	NO	NO	NO
Significant difference between the <i>LatfA</i> and the appropriate control strain (Fisher's exact test, p<0.05):				NO	NO	NO
Frequency in the down-regulated gene group:	12/653	0/645	1/357	2/557	0/638	1/525
Background frequency	44/10390					
Significant enrichment in the studied gene group in compare to the background frequency (Fisher's exact test, p<0.05):	YES	NO	NO	NO	NO	NO
Significant difference between the <i>LatfA</i> and the appropriate control strain (Fisher's exact test, p<0.05):				YES	NO	NO

„Szkvalén-ergoszterin bioszintézis” gének

Gén ID	Gén név	GO term	Ortológok <i>A. fumigatus</i>	Microarray adatok (log ₂ R)					
				Kontroll törzs			<i>ΔatfA</i> törzs		
				MSB	<i>t</i> BOOH	diamid	MSB	<i>t</i> BOOH	diamid
AN0451		ergosterol biosynthetic process	<i>erg2</i>	-1,25934	-0,59693	-1,09502	-0,59736	-0,69584	-0,44794
AN10648		ergosterol biosynthetic process	<i>erg4 (erg4B)</i>	-2,75897	-2,83219	-1,76455	-1,50778	-2,19319	-0,86136
AN11008	<i>ergA</i>	ergosterol biosynthetic process	<i>erg1</i>	-0,75862	-1,53076	-1,71823	0,186696	0,346196	-1,02373
AN11065		-	<i>erg7 (erg7A), erg7B és erg7C</i>	0,925465	0,000637	1,336381	-1,10659	-0,33024	0,84323
AN11081		steroid biosynthetic process	<i>erg26</i>	-1,82985	-2,18231	-1,53533	-0,9098	-1,75251	-1,06906
AN1147		-	<i>erg27</i>	0,840943	0,007629	-1,29125	-0,50084	0,522627	-1,40132
AN1901	<i>pdmA</i>	ergosterol biosynthetic process	<i>cyp51A és cyp51B</i>	-0,68054	0,197421	-1,01939	0,526017	1,212637	0,32648
AN2684		sterol metabolic process	<i>erg4A</i>	1,480782	0,99851	-1,09572	0,074553	1,254256	-0,78281
AN4042	<i>cyp61A1</i>	ergosterol biosynthetic process	<i>erg5</i>	-1,95873	-1,67793	-2,51366	-0,52758	-0,54072	-0,94238
AN4094		ergosterol biosynthetic	<i>erg24 (erg24A) és</i>	-0,52191	0,386212	-3,8874	0,394919	-0,48407	-3,35443

		process	<i>erg24B</i>						
AN6506		ergosterol biosynthetic process	<i>erg3A</i> , <i>erg3B</i> és <i>erg3C</i>	-0,46121	-0,82315	-1,46246	-0,49354	-0,08365	-1,31458
AN6973		ergosterol biosynthetic process	<i>erg25 (erg25A)</i> és <i>erg25B</i>	0,034063	-0,37015	-1,06899	0,005517	-0,04685	-1,07093
AN7146		ergosterol biosynthetic process	<i>erg6</i>	-1,82777	-1,0139	-1,54259	-2,40422	-0,96373	-0,63693
AN7575		steroid biosynthetic process	<i>erg26</i>	-0,56657	0,024894	0,359451	-0,7184	0,098029	0,523469
AN8283	<i>cyp51B</i>	ergosterol biosynthetic process	<i>cyp51A</i> és <i>cyp51B</i>	-1,53026	-1,00458	-0,54419	-1,80053	-1,72793	-0,73989
AN8907		sterol metabolic process	<i>erg25 (erg25A)</i> és <i>erg25B</i>	-1,09479	-1,39827	-1,30931	-0,26329	-0,54785	-1,47024
Frequency in the up-regulated gene group:				0/636	0/686	0/493	0/546	0/504	0/449
Background frequency				16/10390					
Significant enrichment in the studied gene group in compare to the background frequency (Fisher's exact test, p<0.05):				NO	NO	NO	NO	NO	NO
Significant difference between the <i>ΔatfA</i> and the appropriate control strain (Fisher's exact test, p<0.05):							NO	NO	NO
Frequency in the down-regulated gene group:				2/653	3/645	2/357	3/557	1/638	1/525
Background frequency				16/10390					
Significant enrichment in the studied gene group in compare to the background frequency (Fisher's exact test, p<0.05):				NO	NO	NO	NO	NO	NO
Significant difference between the <i>ΔatfA</i> and the appropriate control strain (Fisher's exact test, p<0.05):							NO	NO	NO

„Szigáltranszdukciós gének”

		Microarray adatok (log ₂ R)					
Gén ID	Gén név	Kontroll törzs			<i>ΔatfA</i> törzs		
		MSB	tBOOH	diamid	MSB	tBOOH	diamid
AN0163		-2,98336	-1,20845	-0,61594	-0,01066	-0,76986	-0,33542
AN0655	<i>sepM</i>	-1,86695	-2,40122	-0,81766	-0,58973	-2,10783	-0,38621
AN0664	<i>plcA</i>	0,618893	-0,32801	-2,11466	0,071527	-0,51654	-2,20358
AN0829	<i>pdeA</i>	-0,56656	-0,27958	3,12226	0,053759	-0,67728	2,959187
AN10614		-3,41172	-2,94255	-1,48849	-1,57727	-2,82854	-0,93385
AN11032	<i>sepL</i>	-1,69722	-1,77773	-0,33115	-0,88022	-1,55711	0,445509
AN1296		1,200541	3,035607	1,02713	0,890349	2,524152	1,36212
AN1560	<i>plkA</i>	-2,79732	-2,97327	-0,8804	-0,72587	-1,83155	-0,00643
AN1573		1,630831	1,152179	-1,86979	1,408885	0,56652	-1,97301
AN1797		1,10258	2,629849	0,476744	0,966652	0,833705	-0,40988
AN2067	<i>ste20</i>	0,077306	-0,70429	-2,59399	0,389111	-0,65958	-2,18632
AN2687	<i>rho4</i>	-2,89799	-2,92524	-0,77876	-0,90379	-1,46916	-0,08612
AN3129		4,867129	5,680158	2,645235	2,854426	3,03184	0,354519
AN3159	<i>prpA</i>	2,979718	3,061367	0,482907	1,627296	2,557511	0,740912
AN3468	<i>H2A.X</i>	-1,016	-1,70429	-1,47018	-0,92612	-1,84581	-1,5256

AN3592	<i>clxA</i>	-3,85007	-0,11482	-1,44998	-1,11609	0,939987	-0,7296
AN3598	<i>fprA</i>	-2,6894	-0,87226	-0,21426	-0,25142	-0,70179	0,01475
AN3607	<i>lreB</i>	-0,10644	0,208142	2,593055	-0,01784	0,061001	2,962807
AN3934		1,967837	1,090804	1,305768	-0,15865	-0,01412	0,69008
AN3941	<i>nimT</i>	-1,98362	-1,27962	-1,85299	-0,42614	-0,23196	-0,71601
AN3946	<i>sldA</i>	-3,59408	-3,34061	-1,80165	-0,86928	-2,74942	-1,00516
AN4113	<i>hk-8-2</i>	1,98928	-2,89575	-2,28219	0,415292	-0,95034	-1,70969
AN4163	<i>cpcB</i>	-4,02087	-2,88477	-1,2593	-1,3338	-2,67208	-0,65694
AN4238	<i>schA</i>	0,067146	-0,32335	-2,6507	0,874171	0,119948	-2,47016
AN4419		0,107179	2,2445	0,408009	0,173448	1,901091	0,13117
AN4483	<i>cmkD</i>	1,623753	-0,72965	-3,71597	-0,45852	-0,25191	-1,32341
AN4623		-1,99168	-0,20006	-0,45533	-0,06846	0,813148	0,656617
AN4685		-2,13788	-1,60247	-2,96655	-0,9521	-2,87033	-3,62806
AN4745		2,273401	0,217701	-0,3809	1,44895	1,302268	0,282658
AN4998	<i>gapA</i>	-1,32302	-1,17088	-0,49264	0,528046	-2,3715	-0,97665
AN5296	<i>tcsA</i>	1,956396	1,418536	-0,2489	1,121185	1,378517	0,025084
AN5768		3,089501	1,353196	-0,55945	1,553101	1,089481	0,24392
AN5791	<i>ppgA</i>	3,192296	-0,44724	0,232264	-0,07856	-0,73974	-0,21136

AN5893	<i>flbA</i>	2,465672	2,254489	1,383988	0,724556	2,109454	1,152817
AN6249	<i>rcnA</i>	0,093517	1,434281	-0,00059	1,473107	3,876786	0,919375
AN6820	<i>hk-8-3</i>	3,582754	-0,44323	-0,16874	0,568759	0,552803	0,494146
AN7661		0,569837	0,384607	-2,90228	1,096848	1,08432	-2,75271
AN7698	<i>shoA</i>	-0,39396	0,066475	-2,78325	-0,61366	0,15546	-1,77394
AN7945	<i>hk2</i>	3,606028	0,082858	-0,50443	0,051349	0,094511	-0,02031
AN8269	<i>hsp90</i>	1,041072	2,114549	0,979345	1,957558	3,021189	2,105848

Frequency in the up-regulated gene group:	11/636	7/686	3/493	7/546	5/504	2/449
Background frequency	40/10390					
Significant enrichment in the studied gene group in compare to the background frequency (Fisher's exact test, p<0.05):	YES	YES	NO	YES	YES	NO
Significant difference between the <i>LatfA</i> and the appropriate control strain (Fisher's exact test, p<0.05):				NO	NO	NO
Frequency in the down-regulated gene group:	11/653	9/645	6/357	1/557	5/638	4/525
Background frequency	40/10390					
Significant enrichment in the studied gene group in compare to the background frequency (Fisher's exact test, p<0.05):	YES	YES	YES	NO	NO	NO
Significant difference between the <i>LatfA</i> and the appropriate control strain (Fisher's exact test, p<0.05):				YES	NO	NO