

EGYETEMI DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**A C faktor termelő *Streptomyces griseus* 45H törzs
spóráképzésének, patogenitásának és taxonómiai besorolásának
vizsgálata**

Kiss Zsuzsanna

Témavezető: Dr. Biró Sándor



DEBRECENI EGYETEM

MOLEKULÁRIS SEJT- ÉS IMMUNBIOLÓGIA DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2010

A doktori értekezés impresszuma

A C FAKTOR TERMELŐ *STREPTOMYCES GRISEUS* 45H TÖRZS SPÓRAKÉPZÉSÉNEK, PATOGENITÁSÁNAK ÉS TAXONÓMIAI BESOROLÁSÁNAK VIZSGÁLATA

Írta: **Kiss Zsuzsanna** okleveles biológus

Készült a Debreceni Egyetem Molekuláris Sejt- és Immunbiológia
Doktori Iskola keretében

Témavezető: **Dr. Biró Sándor, PhD**

A doktori szigorlati bizottság:

Elnök: Prof. Dr. Fésűs László, akadémikus
Tagok: Prof. Dr. Putnoky Péter, az MTA doktora
Prof. Dr. Szabó Gábor, az MTA doktora

A doktori szigorlat időpontja: 2010. október 8. 9 óra, Biokémiai és Molekuláris Biológiai
Intézet könyvtára

Az értekezés bírálói:

Dr. Kiss Antal, az MTA doktora
Dr. Karaffa Levente, Ph.D.

A bírálóbizottság:

Elnök: Prof. Dr. Fésűs László, akadémikus
Opponensek: Dr. Kiss Antal, az MTA doktora
Dr. Karaffa Levente, Ph.D.
Tagok: Prof. Dr. Putnoky Péter, az MTA doktora
Prof. Dr. Szabó Gábor, az MTA doktora

Az értekezés védésének időpontja: 2010. október 8. 13 óra, I. sz. Belgyógyászati Klinika
tanterme

RÖVIDÍTÉSEK

<i>aacC4</i>	aminoglükózid-3-acetiltranszferáz IV enzim génje
AdpA	A-faktor függő fehérje
Apr	apramycin
<i>facC</i>	C faktor gén
MM	minimál táptalaj
<i>necI</i>	nekrózis faktor gén
PAI	patogenitási sziget (large pathogenicity island)
PCR	polimeráz láncreakció
PNB	p nitrophenyl butyrate
rRNS	riboszómális RNS
Thio ^S	thiostrepton szenzitív
Apr ^R	apramycin rezisztens
45H	<i>S. griseus</i> (<i>S. albidoflavus</i>) 45H törzs
45H-B	<i>S. griseus</i> (<i>S. albidoflavus</i>) 45H törzs null mutánsa
52-1	<i>S. griseus</i> 52-1 törzs
CFBP4501	<i>S. europaeiscabiei</i> CFBP4501 patogén törzs

1. BEVEZETÉS

A Gram-pozitív, micéliális növekedésű *Streptomyces*ek elméleti és gyakorlati szempontból is fontos mikroorganizmusok: spóráképzéssel végződő komplex morfológiai differenciálódásukkal párhuzamosan nagyszámú szekunder metabolitot termelnek, köztük az ismert antibiotikumok több mint 60%-át és sokféle ipari enzimet is. A komplex életciklus szabályozásában szerepet játszanak az extracelluláris autoregulátorok. A legismertebb autoregulátor az A-faktor (2-izokapriloil-(3R)-hidroximetil- γ -butirolakton), mely a légmicéliumképzést és a szekunder metabolit bioszintézist szabályozza *S. griseus*ban.

Egy másik fontos autoregulátor az extracelluláris szignálfehérje, a C faktor, melyet eredetileg a *S. griseus* 45H-ként azonosított törzs fermentlevéből izoláltak. A C faktort termelő törzset az ipari streptomycint termelő *S. griseus* 52-1 törzshöz kapcsolódó mutagenesis program keretében izolálták, melynek során morfológiai illetve streptomycint nem-termelő mutánsokat kívántak izolálni. A 45H törzs feltételezett eredete azonban kérdéses, mivel a két törzs számos lényeges tulajdonságában különbözik, továbbá Southern hibridizációval nem sikerült a gént az 52-1 törzsben kimutatni, ugyanakkor a *S. griseus* 45H és egy flavofungint termelő *S. flavofungini* törzs, mellyel a 45H törzs izolálásakor szintén dolgoztak a laboratóriumban, restrikciós mintázata nagymértékben hasonló.

A *S. griseus* 45H törzs jól spórázik szilárd és folyékony táptalajon is, mely utóbbi tulajdonság csak kevés *Streptomyces* törzsre jellemző. A 45H törzs által termelt C faktor fehérje hatással van az 52-1 törzs differenciálódására és a törzs C faktor jelenlétében képes spóráképzésre folyékony tenyészetben. A C faktor gén expresszióját vizsgálták különböző *Streptomyces* törzsekben, ugyanakkor még nem ismerjük pontosan a fehérje szerepét a termelő törzs differenciálódásában.

Southern hibridizációs kísérletek és adatbázisokban megtalálható szekvenciák összehasonlításával csak nagyon kevés *Streptomyces* törzsben azonosíthatók *facC* gén homológok. Érdekes módon a gén homológja megtalálható a legismertebb növényi kórokozóban, a *S. scabies*-ben, mely a burgonyagumók közösleges varasodásáért felelős. Burgonyavarasodásért felelős kórokozókat más, filogenetikailag diverz *Streptomyces* fajokban is azonosítottak, melyek közül néhány a *S. albidoflavus* csoportba tartozik.

A burgonyavarasodást okozó *Streptomyces* törzsekben a patogenitás összefüggésben van az ún. patogenitási sziget (PAI) jelenétével, melyen a patogenitásért felelős gének - thaxtomin bioszintetikus gének, *nec1* nekrozis faktor gén és további virulencia gének - egymás mellett helyezkednek el. Előfordul, hogy a PAI, mint mobilis genetikai elem, átkerül valamely nem-patogén *Streptomyces* törzsbe és azt fertőzőképesé teszi. A burgonyagumók külső védőrétege azáltal válik ellenállóvá a kiszáradással és fertőzésekkel szemben, hogy a sejtfalba szuberin rakódott, ezért a fertőzésben fontos szerepet játszanak a különböző sejtfalbontó extracelluláris észterázok.

A C faktor szerepet játszik több, az A-faktor regulonba tartozó extracelluláris enzim szabályozásában egyrészt az A-faktor termelés indukálásán, és/vagy az A-faktor regulonba tartozó gének közvetlen szabályozásán keresztül. A szabályozott enzimek többsége cink kofaktorral működik, s génjük előtt AdpA kötőhely van, melyhez az A-faktor regulon szabályozásában kulcsszerepet játszó AdpA fehérje kötődik. A *S. scabies* extracelluláris észterázának cink az aktivátora, és génje előtt egy fehérje-kötőhely található, mely nagymértékben azonos az AdpA konszenzus kötőhellyel, továbbá a *S. scabies*-ben található egy, az A-faktor bioszintézisében kulcsszerepet játszó enzim, az AfsA génjének homológja. Ezért lehetséges, hogy az észteráz része egy AdpA által szabályozott regulációs kaszkádnak.

Munkám során az alábbi kérdésekre kerestem választ:

1. A *S. griseus* 45H, *S. griseus* 52-1 és a laboratóriumban izolált *S. flavofungini* törzsek rokonságának vizsgálata 16S rRNS génszekvenciák összehasonlításával, majd a 45H törzs taxonómiai besorolásának megerősítése Southern hibridizáció segítségével.

2. A *S. griseus* 45H törzs *facC* null mutánsának létrehozása annak tanulmányozására, hogy a fehérje az életciklus mely lépéseit szabályozza a termelő törzsben és hogyan hat a morfológiai differenciálódás folyamatára, ha nem termelődik C faktor.

3. Bár a C faktor fehérjét és morfológiai differenciálódásban betöltött szerepét részletesen tanulmányozták, a fehérje pontos szerepe és az, hogy mely regulációs kaszkád tagja, még nem ismert. Ezért adatbázisokban C faktorról homológ géneket kerestünk, amelynek eredményéből esetleg következtethetünk a C faktor hatásmechanizmusára.

4. Megtalálható-e a *S. griseus* 45H törzsben a PAI részét képező *nec1* gén, illetve termelődik-e a patogén *S. scabies* törzsekre jellemző extracelluláris észteráz és az enzim állhat-e a C faktor regulációja alatt.

5. A virulencia faktorok vizsgálatát követően a *S. griseus* 45H törzs fertőzőképességének tesztelése burgonya mikrogumókon összehasonlítva ismert kórokozó és nem kórokozó törzsek fertőzőképességével.

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

2.1. A *S. griseus* 45H törzs taxonómiai besorolásának vizsgálata

A *S. griseus* 45H, a laboratóriumban izolált *S. flavofungini* és a *S. griseus* 52-1 törzsek rokonságát 16S rRNS gén szekvenciák összehasonlításával vizsgáltuk, majd a 45H törzs taxonómiai besorolását Southern hibridizációval erősítettük meg. A 16S rRNS génjét PCR reakcióval amplifikáltuk mindhárom törzsben, a szekvenciákat direkt szekvenálás módszerével határoztuk meg, majd a „Neighbour-joining” standard módszer valamint a Jukes és Cantor-féle távolságmatrix felhasználásával megszerkesztettük a törzsek közötti rokonságot bemutató filogenetikai fát. A Southern hibridizációhoz a *facC* gén 860 bp méretű, digoxigeninnel jelölt (Dig Nucleid Acid Detection Kit, Boehringer Mannheim) *EcoRV-SalI* fragmentjét használtuk próbaként.

2.2. A *S. griseus* 45 törzs null mutánsának előállítása és tanulmányozása

A null mutáns létrehozásához *in vitro* kísérletsorozatban terveztük a *facC* gén inzerációs inaktiválását, ezért egy Apr rezisztenciát biztosító *aacC4* gént építettünk be a pSGF4 plazmidon klónozott *facC* génbe. Ezt követően eltávolítottuk a plazmidból a *Streptomyces* replikációs origót, hogy a transzformációt követően megtörténjen a homológ rekombináció a kromoszómán lévő *facC* gén és az inaktivált kópia között. Az így létrejött pSB51 plazmidot, mely az *aacC4* génnel megszakított *facC* gén mellett hordoz még egy *thio* rezisztencia markert is, polietilén glikolos transzformációval juttattuk be *S. griseus* 45H protoplasztokba. Azon Thio^S, Apr^R telepeket, melyek a szelekcióra használt táptalajon kopasz (*bald*) fenotípust mutattak, felszedtük és genetikai összetételüket Southern hibridizációval vizsgáltuk. A Southern hibridizációhoz a *facC* gén 860 bp méretű, radioaktívan jelölt *EcoRV-SalI* fragmentjét használtuk próbaként, mely az Apr rezisztencia gén előtt 835 bp-t, az Apr rezisztencia gén után 25 bp-t fed le a *facC* génből.

2.3. C faktor génnel homológ gének keresése

A *facC* gén homológok kereséséhez a GenBank adatbázist és PHI-BLAST programot használtunk.

2.4. A *necI* gén jelenlétének vizsgálata a *S. griseus* 45H törzsben és más *Streptomyces* törzsekben

A *necI* gén jelenlétét PCR reakcióval és Southern hibridizációval vizsgáltuk az alábbi *Streptomyces* törzsekben: 45H, 45H-B, 52-1, CFBP4501. A *necI* gén amplifikálásához azt a primer párt és reakciókörülményeket alkalmaztuk, mellyel korábban a *S. scabies*ben azonosították gént. A Southern hibridizációhoz a CFBP4501 törzsben amplifikált és digoxigeninnel jelölt (Roche DIG DNA labeling and detection kit) *necI* gént használtuk.

2.5. Az extracelluláris észteráz aktivitás vizsgálata a *S. griseus* 45H törzsben és más *Streptomyces* törzsekben

A vizsgált *Streptomyces* törzseket – 45H, 45H-B, 52-1, CFBP4501 – párhuzamosan növesztettük cinket tartalmazó és cinkmentes MM táptalajon. Az extracelluláris észteráz aktivitást spektrofotométerrel mértük PNB-t használva szubsztrátként. A reakció a PNB-nek a sejttenyészetek fermentlevéhez való hozzáadásával indult, majd a hidrolízist spektrofotométerrel mértük 420 nm-en 10 percen keresztül, szobahőmérsékleten. Ezzel párhuzamosan, a hőstabil észteráz aktivitás méréséhez, a sejttenyészetek fermentlevét a PNB hozzáadása előtt 10 percig 60 °C-on hőkezeltük. Az extracelluláris észteráz aktivitást 1 mg száraz micéliumra vonatkoztatva adtuk meg $\text{nmol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ egységben. Három párhuzamos mérés alapján szórást számoltunk, illetve T próba alapján szignifikancia analízist is végeztünk.

2.6. Patogenitási teszt burgonya mikrogumókon

A tesztelés során négy *Streptomyces* törzs (45H, 45H-B, 52-1, CFBP4501) sejttenyészetét és három burgonyafajta (Cleopatra, Desiree, Rebeka) mikrogumóit használtuk. Fajtánként 12 burgonya mikrogumót helyeztünk 20-20 ml sejtszuszpenzióba, 5 mikrogumót steril deszt. vízbe helyezünk. 10 perc után a mikrogumókat kivesszük és nedves papírvattával bélelt, lefedett Petri-csészékben 28 °C-os termosztátba helyezzük. A tünetek alapján öt betegségfokozatot különböztettünk meg: tünetmentes (0 pont); fehér foltok, telepek a lenticellák körül (1 pont); barna foltok, kezdődő varasodás a lenticellák körül (2 pont); kiterjedt varasodás az egész gumó felületén (3 pont); kiterjedt varasodás, rothadás (4 pont). A mikrogumókat a kezelést követően 10 napig monitoroztuk és a tünetek alapján betegségindexet (Bi) számoltunk.

2.7. Egyéb módszerek

Az alábbi módszerek esetében a Genetic Manipulation of *Streptomyces*, a Practical *Streptomyces* Genetics és a Molecular cloning, A Laboratory Manual, 3rd ed. kézikönyvekben leírtakat követtük: *Streptomyces* törzsek tenyésztése, *Streptomyces*ek transzformálása, kromoszómális DNS izolálása *Streptomyces*ből, *E. coli* transzformálása, plazmid izolálás *E. coli*ből, agaróz gélelektroforézis, DNS izolálása gélből, ligálás.

3. ÚJ EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

3.1. A *S. griseus* 45H törzs taxonómiai besorolásának felülvizsgálata

Direkt szekvenálás módszerével meghatároztuk a *S. griseus* 45H, a laboratóriumban izolált *S. flavofungini* és a *S. griseus* 52-1 törzsek 16S rRNS génjének szekvenciáját majd a fenti törzsek, a törzsekkel rokon *Streptomyces* és a *Streptomyces* genusz reprezentatív tagjainak 16S rRNS gén szekvenciáiból megalkottuk a törzsek közötti rokonságot bemutató filogenetikai fát. A *S. griseus* 52-1 törzs 16S rRNS gén szekvenciája megegyezik a *S. griseus* rRNS operonok rrnA-E szekvenciáival, azaz a törzs valóban *S. griseus*. A *S. griseus* 45H és *S. flavofungini* törzsek 16S rRNS gén szekvenciái egymással teljesen megegyeznek, de eltérnek *S. griseus* 52-1 törzs és a típustörzs *S. flavofungini* NRRL B-12307^T és NBRC 13371 szekvenciáitól is. Teljesen azonosak viszont a *S. albidoflavus* csoport 16S rRNS gén szekvenciáival.

Mivel a szekvencia-analízis alapján egyértelművé vált, hogy a *S. griseus* 45H törzs a *S. albidoflavus* csoportba tartozik, Southern hibridizációval vizsgáltuk a *facC* gén meglétét a *S. albidoflavus* csoport fajaiban. Négy vizsgált törzs közül háromban sikerült a *facC* gént detektálni. Az a törzs, amelyben nem sikerült a *facC* gént kimutatni, relatíve távoli rokona a csoport tagjainak, ami alapján valószínűsíthető a C faktor gén specifikus előfordulása a *S. albidoflavus* csoportban.

Eredményeink alapján valószínűsítjük, hogy a C faktort termelő 45H törzset véletlen laboratóriumi kontaminációként izolálták. A 16S rRNS gén szekvenciák és a Southern hibridizáció eredményei alapján a 45H törzs és a laboratóriumban izolált *S. flavofungini* törzs megegyezik és a *S. albidoflavus* csoport tagja. Ezért a C faktort termelő törzs elnevezését *S. albidoflavus* 45H-ra javasoltuk megváltoztatni.

3.2. A *S. griseus* 45 törzs null mutánsának előállítása és tanulmányozása

A C faktor morfológiai differenciálódásban betöltött szerepének vizsgálatához létrehoztuk a törzs C faktort nem termelő mutánsát az alábbiak szerint: a *facC* gén *in vitro* inzerciós inaktiválása, majd a kromoszómális génkópia lecserélése az inaktivált *facC* génre kettős crossing overrel. A Thio^S, Apr^R telepek, melyekről feltételeztük, hogy tartalmazzák a megszakított gént, várakozásunknak megfelelően kopasz fenotípusúak voltak. Több, egymástól függetlenül felszedett kopasz telepet vizsgáltunk Southern hibridizációval, de egyikben sem tudtuk a megszakított *facC* gént detektálni. Ebből arra következtetünk, hogy nem az általunk tervezett homológ rekombináció történt, hanem a teljes gén vagy annak egy jelentős része delécióra került, azzal a régióval együtt, ami a próbával homológ részt (az Apr rezisztencia gén „előtti” szakasz) tartalmazza. Ezt követően plazmidon klónozva transzformáltuk a *facC* gént a *bald* mutánsba aminek eredményeképpen mind a légmicéliumképzés, mind a sporuláció helyreállt. Ez azt mutatja, hogy a kopasz fenotípus a *facC* gén deléciója következtében alakult ki.

3.3. C faktor génnel homológ gének keresése

Adatbázisokban homológ géneket keresve csak néhány *Streptomyces* törzsben - pl. *Streptomyces albus*, *S. scabies* 87.22, *S. ambofaciens* - találtunk a C faktor génhez nagymértékben hasonló géneket. Nem található *facC* homológ a *S. coelicolor* A3(2), a *S. avermitilis* MA-4680 és a *S. griseus* IFO 13350 törzsben sem. A *S. scabies*ben illetve *S. ambofaciens*ben talált *facC* homológ gének a kromoszóma terminális régiójában helyezkednek el, ahol gyakran fordulnak elő különböző strukturális változások (deléció, rekombináció, stb.), mely kapcsolatban lehet a *Streptomyces*ek evolúciójával és a horizontális géntranszferrel.

Találtunk még C faktor homológokat alacsony G+C tartalmú Gram-pozitív baktériumokban, főleg *Staphylococcus* és *Lactobacillus* fajokban és ezek

fágjaiban, néhány *Actinomycetes*ben, valamint több fonalas gombában is, melyek többsége patogén tulajdonságokkal rendelkezik.

3.4. A *nec1* gén jelenlétének vizsgálata a *S. griseus* 45H törzsben és más *Streptomyces* törzsekben

A *nec1* gén nagymértékben konzervált és általában a PAI-n helyezkedik el más virulencia génekkel (pl. thaxtomin család tagjai) együtt. A *nec1* gént (és vele együtt a PAI-t) PCR reakcióval csak a CFBP4501 törzsben sikerült kimutatnunk. Feltételeztük, hogy a filogenetikailag távolabbi 45H törzsben a *nec1* szekvencia divergenciája lehet a negatív eredmény magyarázata, ezért a gén jelenlétét megvizsgáltuk Southern hibridizációval is, melyben a CFBP4501 törzsben kapott PCR fragmentumot használtuk próbaként. Ezzel a módszerrel sikerült a *nec1* gén jelenlétét kimutatni a CFBP4501 törzs mellett a 45H és 45H-B törzsekben is, de az 52-1 törzsben nem. Ez alapján azt feltételezzük, hogy a PAI, de legalábbis annak egy része, megtalálható a *S. griseus* 45H törzsben, ugyanakkor a C faktor gén deléciója a 45H-B törzsben ezt a régiót nem érintette.

3.5. Az extracelluláris észteráz aktivitás vizsgálata a *S. griseus* 45H törzsben és más *Streptomyces* törzsekben

Az extracelluláris észteráz aktivitást cinkkel kiegészített és cinkmentes MM táptalajon növesztett sejtenyészetek fermentlevében mértük. Az enzimaktivitást párhuzamosan mértük hőkezelt és nem hőkezelt mintákban. Az észteráz aktivitás a CFBP4501 és 45H törzsekben magas, illetve közepes mértékű volt és mindkét törzsben hőstabilnak bizonyult illetve cinkkel indukálható volt. A *S. griseus* 45H-B és a *S. griseus* 52-1 törzsek esetében alacsony, hőre inaktiválódó és cinkkel nem indukálható enzimaktivitást mértünk. A mért különbségek minden méréspár esetében szignifikánsak voltak ($p=0,05$ vagy kisebb). Az eredményekből arra következtetünk, hogy az extracelluláris észteráz valamilyen módon a C faktor regulációja alatt áll.

3.6. Patogenitási teszt burgonya mikrogumókon

Négy *Streptomyces* törzs - 45H, 45H-B, 52-1, CFBP4501 – fertőzőképességét vizsgáltuk. A vizsgált törzsekre jellemző betegségindexet (B_i) a mikrogumókon megjelent tünetek alapján számoltuk ki, amely alapján a vizsgált törzseket az alábbi csoportokba soroltuk: nem fertőzőképes ($B_i < 1$), mérsékelten fertőzőképes ($1 \leq B_i \leq 2$), nagymértékben fertőzőképes ($B_i > 2$). Ez alapján a legfertőzőképesebb, virulens törzs a CFBP4501 volt, a 45H és a 45H-B mérsékelten volt fertőzőképes, míg a *S. griseus* 52-1 nem volt fertőzőképes. A 45H törzs fertőzőképessége némileg meglepő volt, de tekintettel az új taxonómiai besorolására (*S. albidoflavus* 45H), ez összhangban van azokkal az eredményekkel, melyek szerint néhány burgonyavarasodásért felelős törzs a *S. albidoflavus* csoportba tartozik.

4. ÖSSZEFOGLALÁS

Eredményeink alapján valószínűsítjük, hogy a *S. griseus* 45H törzset az ugyanabban a laboratóriumban vizsgált *S. flavofungini* törzs kontaminációjaként izolálták. A 16S rRNS gén szekvenciák összehasonlítása és a Southern hibridizáció eredménye alapján a *S. griseus* 45H és *S. flavofungini* törzsek teljesen megegyeznek és a *S. albidoflavus* csoportba tartoznak. Ezért a *S. griseus* 45H törzs elnevezést *S. albidoflavus* 45H-ra változtattuk meg.

A 45H törzs *facC* null mutánsának létrehozásához megterveztük a *facC* gén *in vitro* inaktiválását, és azt vártuk, hogy az inaktivált gén homológ rekombinációval a kromoszómán lévő *facC* gén helyére kerül. A feltételezett „rekombinációs” mutánsok várákozásunknak megfelelően kopasz fenotípust mutattak, ugyanakkor a Southern hibridizációt követően kiderült, hogy a homológ rekombinációval összefüggésben valószínűleg kromoszóma átrendeződés történt, ami a *facC* gén delécióját eredményezte. A deléció nem ritka az instabil lineáris kromoszóma terminális régiójában, így a *facC* gén hasonló kromoszómális lokalizációja magyarázat lehet a bekövetkezett delécióra. A létrejött kopasz fenotípus, melyet a klónozott és plazmidon bejuttatott *facC* gén helyreállított, megerősíti, hogy a C faktor kulcsszerepet játszik a differenciálódás szabályozásában.

A *necI* gént használtuk a PAI jelenlétének vizsgálatára, mely felelős a különböző *Streptomyces* törzsek patogenitásáért. PCR reakcióval illetve Southern hibridizációval kimutattuk a *necI* gént a *S. europaeiscabiei* CFBP4501, *S. griseus* 45H és 45H-B törzsekben, de nem volt jelen a *S. griseus* 52-1 törzsben. Valószínű, hogy a null mutánsban a *facC* génnel együtt további DNS szakaszok is delécióra kerültek, ugyanakkor a PAI-hoz tartozó DNS egy része, melyen a *necI* gén is található, megmaradt.

Szoros összefüggést találtunk a cinkkel indukálható, hőstabil extracelluláris észteráz termelése és a törzsek fertőzőképessége között. A *facC* null mutánsban

csökkent a cinkkel indukálható észteráz szintje, ami alapján feltételezzük, hogy az extracelluláris észteráz termelés szabályozásában a C faktor szerepet játszik. Mivel a null mutánsban nem szűnt meg az észteráz aktivitás, arra következtetünk, hogy a *facC* gén deléciója az észteráz gént nem érintette. Figyelembe véve a C faktor lehetséges szerepét az A-faktor regulonba tartozó extracelluláris enzimek szabályozásában és a szabályozott extracelluláris enzimek jellemzőit valamint azt, hogy az extracelluláris észteráz génje előtt lévő fehérje kötőhely nagyon hasonlít az AdpA konszenzus kötőhelyhez, feltételezzük, hogy a C faktor a morfológiai differenciálódás mellett extracelluláris hidrolázok termelését is szabályozza.

5. KÖZLEMÉNYEK

5.1. A tézis alapjául szolgáló elsőszerzős közlemények

- Kiss Zs**, Ward AC, Birkó Zs, Chater KF, Biró S (2008): *Streptomyces griseus* 45H, the producer of the extracellular autoregulator protein factor C, is a member of the species *Streptomyces albidoflavus*. *Int J Syst Evol Microbiol* 58: 1029-1031 (IF: 2.222)
- Kiss Zs**, Dobránszki J, Hudák I, Birkó Zs, Vargha Gy, Biró S (2010): The possible role of factor C in common scab disease development. *Acta Biol Hung* 61(3): 322–332 (IF: 0.619)

5.2. Előadások, poszterek

- Kiss Zs**, Biró S (2002) A C faktor gén inaktiválása *Streptomyces griseus*ban kopasz fenotípust eredményez. A Magyar Biokémiai Egyesület Molekuláris Biológiai szakosztály 7. munkaértekezlete, Keszthely (poszter)
- Biró S, Birkó Zs, **Kiss Zs**, Keller U (2002) Factor C, a secreted pleiotropic autoregulator of cell differentiation in *Streptomyces griseus*. 9th International Symposium of Industrial Microorganisms. Gyeongju, Korea (poszter)
- Birkó Zs, **Kiss Zs**, Biró S (2003) Factor C, a secreted pleiotropic autoregulator of cell differentiation in *Streptomyces griseus*. *Streptomyces dissemination meeting*. University of Surrey, Guildford (poszter)
- Birkó Zs, **Kiss Zs**, Biró S (2005) *Streptomyces*ek sejtdifferenciálódásának vizsgálata genomikai és proteomikai módszerekkel. VI. Magyar Genetikai Kongresszus, Eger (előadás)

- Birkó Zs, **Kiss Zs**, Biró S (2005) Study of the extracellular proteome of *Streptomyces griseus* during development. 1st Central European Forum for Microbiology (CEFORM) and the Annual Meeting of the Hungarian Society for Microbiology, Keszthely (poszter)
- Kiss Zs**, Dobránszki J, Hudák I, Biró S(2007) A C faktort termelő *Streptomyces griseus* 45H törzs patogenitásának vizsgálata burgonyán. VII. Magyar Genetikai Kongresszus – XIV. Sejt- és Fejlődésbiológiai Napok, Balatonfüred (poszter)