

# **PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM**

Biológiai Doktori Iskola  
Mikroorganizmusok életfolyamatainak molekuláris analízise

## **EPR vizsgálatok élesztősejteken: a karotinoidok membrándinamikai szerepe és a Cr(VI) redukciója**

**PhD értekezés**

**Blaskó Ágnes**

Témavezető:

**Dr. Pesti Miklós** egyetemi tanár  
**Dr. Belágyi József** emeritus professzor

**PÉCS, 2010**

## **BEVEZETÉS**

Az élesztősejtek, mint ahogy minden élőlény, életük során számos környezeti stressz hatásra (szárazság, hőmérséklet-változás, környezetszennyeződés stb.) reagálnak, hogy fenntartsák életükhöz optimális belső egyensúlyukat, homeosztázisukat. E hatások gyakran az optimális életkörülmények megváltozását okozzák, ezzel alkalmazkodásra, adaptációra kényszerítik őket. A hatás erősségétől függően reagálnak a különféle stresszorokra és mozgósítják az annak megfelelő védelmi rendszerüket, hogy csökkentsék, ill. közömbösítsék azok károsító következményeit.

### EXTRACELLULÁRIS SEJTVÉDELEM

A sejt elsődleges védelmi vonala közé tartozik a sejtmembrán. A szerkezeti elhatárolás mellett megakadályozza, ill. mérsékli a külső környezetből beáramló károsító, oxidatív anyagok mennyiségét, speciális szerkezete révén. A biológiai membránok általában tartalmaznak olyan anyagot (koleszterin, ill. származékai), ami szabályozza a termodinamikai és mechanikai tulajdonságait. Feltételezik azt, hogy egyes élesztőgombák membránjában található karotinoidok és más terpénoid vegyületek hasonló funkciót töltenek be, ill. még az oxidatív anyagok sejtbe jutása előtt próbálnak valamiféle plusz védelmi rendszert képezni a sejt számára. A biológiai membránoknál, az adott biológiai rendszer szokásos „működési hőmérsékletén”, a lipid kettős rétegben az egyes lipidek nagyfokú mozgékonyással rendelkeznek, mivel közöttük nem-kovalens kölcsönhatások működnek. Ezek a mozgások eredményezik a membrán fluiditását, ami működésüknek elengedhetetlen feltétele. A membránokban a lipidek mozgékonyága függ a hőmérséklettől és a membrán összetételétől.

A lipid-oldékony karotinoidok könnyen inkorporálódnak a *X. dendrorhous* sarjadzó élesztő plazmamembránjában és azok stabilitása, lokalizációja meghatározza a membrán dinamikáját. A karotinoidok

elhelyezkedése a plazmamembrán kettős rétegében, a hidrofób részében, ill. más membránkomponenseiben, mint például a mikroszómáinak és a vakuolumainak a membránjában történik

#### INTRACELLULÁRIS SEJTVÉDELEM A KRÓM OKOZTA OXIDATÍV KÁROSODÁSOK ELLEN

Az ipari tevékenységnek köszönhetően napjainkra nagy mennyiségben halmozódtak fel nehézfémek a környezetben és szervezetünkben. A természetben a Cr(VI) és a Cr(III) jelentősek az élő sejtre, szervezetre gyakorolt hatásmechanizmusa miatt. A hatvegyértékű króm magasabb toxicitással, karcinogenitással bír, mint a Cr(III) ionok, mert a Cr(VI) vízoldhatóbb és szerkezetbeli különbségükből adódóan könnyebben áthatol a biológiai membránokon. A sejtek Cr(VI) ion felvétele nemspecifikus anion transzporttal, az ún. permeáz rendszeren keresztül történik, facilitált diffúzióval. A felvétel addig tart az ilyen típusú transzporterek esetében, ameddig a biológiai membrán két oldalán azonos ion koncentráció létre nem jön az adott oxidációs állapotban. A Cr(III) számára a sejtmembrán mindkét irányba gyakorlatilag átjárhatatlan. A Cr(VI)-ként a sejtbe kerülve Cr(III)-á redukálódnak *in vitro* kísérletek tanúsága szerint, így a különféle redukált állapotú króm metabolitok [Cr(V),Cr(IV)] rövid felezési idejű ROS-eket generálnak, melyek GSH komplex formájában vannak jelen. Közben olyan glutationil gyök keletkezhet belőlük, amely már sejtkárosodást okozhatnak és más tiol molekulákkal szuperoxid-gyököt ( $O_2^{\cdot-}$ ) termelhetnek. Redukció folyamán a keletkező Cr(V) a sejtben természetes úton létrejött  $H_2O_2$ -dal Fenton típusú reakcióba lép  $\cdot OH$  gyök képzése közben, melyről köztudott, hogy a legreaktívabb a szabadgyökök közül és a sejt nem rendelkezik vele szemben enzimatis védelemmel. Kölcsönhatásba lép a sejt valamennyi fontos makromolekulájával, így a DNS módosítása mellett DNS lánctörést okoz, amellyel jelenleg magyarázzuk mutagén és karcinogén hatását valamennyi élőlény esetében.

## CÉLKITŰZÉS

A munkám egyik fő célkitűzése az volt, hogy részletesen megvizsgáljam az astaxantin szintézis különböző lépéseiben mutálódott *X. dendrorhous* élesztőgombák által termelt karotinoidok:

I.1. összetételét és mennyiségét;

I.2. és oxidatív stresszorokra (kadmium és H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) létrejött mennyiségi változását.

Tanulmányoztuk *in vivo*:

II.1. a különböző karotinoidok *X. dendrorhous* plazmamembránjának dinamikájára gyakorolt hatását.

Tanszékünkön a kutatási program 1994-ben kezdődött, melynek alapvető célja a környezetszennyező nehézfémek, kiemelten a krómvegyületek hatásmechanizmusának vizsgálata. Tanszékünk így egy igen összetett antioxidáns rendszert kutat, a glutation redox rendszerét, amin belül a mi csoportunk arra fókuszált, hogy kimutassuk a Cr(VI) tolerancia molekuláris hátterét, folyamatait egy olyan *S. pombe* mutánsnál, a *chr1-66T*-nél, amelynél bizonyított, hogy a mutagénkezelés hatására a mutáció egy génben történt.

Célunk, hogy összevegyük EPR technikával a szülői törzs (*6chr<sup>+</sup>*) és Cr(VI) toleráns mutánsának (*chr1-66T*):

1. Cr(VI) redukciós aktivitását;
2. az intracelluláris Cr(V) és <sup>•</sup>OH koncentrációját K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> -tal való kezelés után;
3. és vizsgáltuk, hogy a NADPH és H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> milyen hatással van a krómkezelt feltárt sejtek Cr(V) és <sup>•</sup>OH koncentrációjára.

## ALKALMAZOTT MÓDSZEREK

### **X. DENDRORHOUS KAROTINOIDOS KÍSÉRLETEI:**

A CBS 6938 szülői *X. dendrorhous* törzs UV fény által indukált, karotinoid szintézisében mutálódott négy eltérő színű törzset választottunk ki a kísérleteinkhez (C27, C29, C30, C31). A kísérletek során 6 napos tenyészeteket használtunk, melyeket YM tartalmú Petri-csészén 20 °C-on inkubáltunk, egyenletes tompított fénnel megvilágítva.

#### ELŐKÉSZÍTÉS KAROTINOID (INDUKCIÓS) HPLC VIZSGÁLATOKHOZ:

A törzseket 50  $\mu\text{M}$   $\text{CdSO}_4$  ill. 2 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$  YPD oldatába 20 °C-on inkubáltuk 3 napon át közepes megvilágításnál 80 rpm-en rázatva. Majd lecentrifugáltuk őket 3500 rpm, és mostuk fiziológias NaCl-dal. Frissen készített 50  $\mu\text{M}$   $\text{CdSO}_4$  YM, ill. 2 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$  YM táptalajra kioltottuk őket és 6 napig inkubáltuk 20 °C-on. A sejtek begyűjtése, mosása után 10 mg fagyasztva szárított sejtéből kezdtük meg a karotinoidok extrahálását DMSO-val. DMSO-ból a karotinoidokat átvittük benzolba, bepárooltuk, melyből a teljes karotinoid mennyiséget spektrofotométerrel határoztuk meg 460 nm-en. A minták részletes elemzése HPLC-vel történt. A vizsgálatok során Shimadzu gradiens HPLC kromatográfot használtuk. Az alkalmazott HPLC metodika a karotinoidok aldehid-, keto-, 5,6-epoxi-, 5,8-epoxi csoportjainak és a cisz kettőskötéseinek a magas intenzitású UV-csúcsainak beazonosítására volt kifejlesztve.

#### EPR VIZSGÁLATOK:

Az EPR mérések elvégzéséhez szükséges paramágneses szondák az élesztő membránjába a sejt falon keresztül nem juttathatók be, ezért a kísérletek elvégzéséhez a sejt fal részleges emésztését éti csiga (*Helix pomatia*, Sigma, L-1419) gyomornedvéből nyert 2 %-os liofizált

csigaenzimet (Szeged) és Novozint (*Trichoderma lysing* enzim, Sigma, L-1390) használtunk, mindkettőből 0,5 %-os, merkaptó-etanolos (2 ‰) oldatot készítettünk.

A minták spinjelölését 5-SASL /5-(4',4-dimetil-oxazolidin-N-oxil)sztearinsav/ jelölővel végeztük. A méréseket 0 - 30 °C tartományban végeztük a spektrométerhez kapcsolt hőmérséklet-variátor segítségével és ILLPC programmal értékeltük ki.

Az értékelés során a spektrum magasterű, és alacsonyterű szélső értékét -mely nem más, mint a spinjelölő hiperfinom csatolási állandója - vettük figyelembe. Mindezek után a kapott csatolási állandó, ill. rendparaméter, valamint a spektrális paraméter értéket ábrázoltuk a hőmérséklet függvényében. A kapott pontokra a lehetőségeknek megfelelően egyeneseket illesztettünk. Az így kapott egyenesek metszéspontja adta meg az adott membrán fázistranzíciós hőmérsékletét.

#### **KRÓM REDUKCIÓS KÍSÉRLETEK *S. POMBE* TÖRZSEKEN:**

Munkánkhoz egy Cr(VI) toleráns *chr1-66T S. pombe* törzset, valamint szülői törzsét *6chr<sup>+</sup>* választottuk ki. •OH mérésre feltárt középlog fázisú *S. pombe* tenyészeteket használtunk, melyet centrifugálás, mosás után felvettük foszfát pufferben, majd rögtön beraktuk -20 °C-ra. Sejtfeltáráshoz X-press-t használtunk, feltárás után a mintát -20 °C-on tároltuk. A mérés napján felengedtük szobahőmérsékleten a mintákat. A kész mintáknak megmértük az OD értékét 280 nm-en, majd beállítottuk őket egyenlő értékűre. Ezután a mérés során a kapillárisba 50 µl mintát raktunk, a plusz térfogatot 10 mM-os Hepes pufferral töltöttük ki. A további oldatokat frissen készítettük: 20 mM-os Cr(VI) törzsoldat, 20 mM-os NADPH oldat, 30 mM-os H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oldat. Gyökfogónak PBN-t használtunk. A reagensek hozzáadása után összeráztuk az elegyet és öt perc múlva mértünk. A spinkoncentráció meghatározása relatív mérés segítségével készült. 10 µM koncentrációjú spinjelölő spektrumának kettős integrálját hasonlítottuk össze a kérdéses minta kettős integráljával azonos spektrumparaméterek mellett történő mérés után.

## **EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK**

A **karotinoid** termelő *CBS 6938 X. dendrorhous* szülői törzs és annak mutagenézissel nyert 4 stabil karotinoid szintézisében módosult mutánsainak tanulmányozása során megállapítottuk, hogy a szülői törzs *CBS 6938*-as és a mutáns *C31*-es törzs nagyobb arányban tartalmazott poláros (astaxantin, cisz-astaxantin és kantaxantin) karotinoidokat. A *C29*-es és *C30*-as mutáns törzsek szignifikánsan több apoláros ( $\beta$ -kriptoxantint,  $\beta$ -karotint) karotinoidot termeltek. A *C27*-es fehér mutáns nem termelt detektálható mennyiségű karotinoidot, így feltehetően a fiton szintézis útvonalában történt mutáció, melynek a következtében hiányoznak a karotinoid intermedierei.

Ezt követően ROS-eket generáltunk  $\text{Cd}^{2+}$ -mal és  $\text{H}_2\text{O}_2$ -dal, hogy megvizsgálhassuk HPLC-val az általuk kiváltott károsító folyamatok, hogyan befolyásolják a relatív karotinogenezis érzékenységét. A termelt karotinoidok mennyisége növekedett kis mértékben (kivétel a *C27* és a *C30* mutáns) mindkét stresszor hatására, de ez kifejezettebb volt a  $\text{Cd}^{2+}$  kezelésnél. A karotinoidok mennyiségének a növekedése azt jelenti, hogy aktívan részt vesznek a  $\text{Cd}^{2+}$  és  $\text{H}_2\text{O}_2$  okozta szabadgyökök eliminálásában, ill. káros következményeinek csökkentésében. A  $\text{Cd}^{2+}$  jellemzően a poláros karotinoidok szintjét növelte, míg a  $\text{H}_2\text{O}_2$  az apolárosokét. Így feltételezhetjük azt, hogy mivel a  $\text{Cd}^{2+}$  és a  $\text{H}_2\text{O}_2$  kezelés eltérő szabadgyökök keletkezését eredményezi, ill. eltérő antioxidáns folyamat(ok) által degradálódik, melyhez a karotenogenezis más-más szintje fog indukálódni. Az eredmények alapján megállapíthatjuk, hogy a  $\text{Cd}^{2+}$  indukálta szabadgyökök (főként a  $\cdot\text{OH}$ ) károsító hatásának a csökkentésében jellemzően az astaxantin vesz részt. A  $\text{H}_2\text{O}_2$  kezelés

következményeit pedig a  $\beta$ -karotin és  $\beta$ -kriptoxantin csökkenti hatékonyabban.

Ez alól kivételt képezett a C30-a mutáns, mivel mindkét esetben csak minimális mértékben emelte, ill. tartotta meg az összkarotinoid szintjét és a stresszorokra csökkent az astaxantin és  $\beta$ -karotin szintje is, viszont  $\beta$ -kriptoxantin aránya feltűnően, nagymértékben emelkedett a  $\text{Cd}^{2+}$  és  $\text{H}_2\text{O}_2$  kezelés hatására. A C27-es albínó mutánsnál semmilyen karotinoid termelés nem indult be, más antioxidáns rendszer (glutathion redox rendszer) aktiválásával védekezhetett a keletkező szabadgyökök ellen.

A karotinogenezis megjelenése és involválódása a dinamikus adaptálódó antioxidáns rendszerhez, biztosítja az állandó megfelelő összetételű karotinoid szintet a *Xanthophyllomyces* sejtek számára az oxidációk elleni védekezéshez. Ha szükséges megemeli az egyes karotinoidok termelt mennyiségét vagy csökkenti azt, ill. az arányokat is befolyásolhatja. Ezekből az eredményekből, arra a következtetésre jutottunk, hogy összefüggés van az adott karotinoid szerkezete és reaktivitása között, valamint az indukciót kiváltó szabadgyök fajtája között.

Ezt követően megvizsgáltuk a *X. dendrorhous* plazmamembránjaiban elhelyezkedő karotinoidok membránra kifejtett hatását, dinamikáját spin-jelölő EPR technikával. A spin-jelölő mobilitását a plazmamembránban erősen befolyásolta a hőmérséklet és a membránban elhelyezkedő karotinoidok tulajdonsága. Az eredményeink azt mutatják, hogy a poláros karotinoidok eltolják a fázistranzíciós hőmérsékletet alacsonyabb érték felé. A CBS 6938-as szülői törzs tartalmazta a legnagyobb mennyiségű poláros karotinoidot (75,2 %) és a legalacsonyabb fázistranzíciós hőmérsékletet (13,3 °C) mutatta, míg a legmagasabb hőmérsékletet a C29-es mutáns esetében mértünk (17,7 °C), mely magas apoláros karotinoid (98 %) tartalmú volt. Ennek feltehetően az a magyarázata, hogy a poláros karotinoidok eltérő hatást fejtenek ki a lipid membrán feji régiójára is, mert a poláros fejük kölcsönhat és perturbálja a lipid kettősréteg poláros részét (anizotrópiát okozva) az által, hogy a poláros



karotinoidok kissé belesüllyednek a membrán felső régiójába, ami lokálisan csökkenti a felszíni rendezettséget. Ez a karotinoid-indukálta lokális változás csökkentheti a fázistranzíciós hőmérsékletet a lipid láncok felszíni régiójában, míg növeli a rendezettséget a szénhidrogénláncok régiójában, azáltal hogy a karotinoidok szénhidrogénlánc van der Waals kötést hoz létre a lipidek szénhidrogénláncával, ill. az astaxantin két terminális jonon gyűrűjén lévő "szabad" hidroxil-csoportok is képesek reakcióba lépni a zsírsavakkal és észterkötéseket képezni. A C30-as mutáns nagyobb arányban tartalmazott  $\beta$ -kriptoxantint, amely polárosabb tulajdonságú, mint a  $\beta$ -karotin, ezért kisebb mértékben még képes kifejteni perturbáló hatást a membrán felszínére. Ezzel magyarázhatjuk, hogy a fázistranzíciós hőmérséklete alacsonyabb (16,0 °C), mint a  $\beta$ -karotin-tartalmú membránnak (17,7 °C), amelynek  $\beta$ -jonon gyűrűje nincs kölcsönhatásban a membrán poláros felszínével. Az astaxantin és a cisz-astaxantin által létrehozott kompaktabb szerkezet csökkenti a membrán átjárhatóságát egyes molekulák számára, ami az astaxantinnek nagyobb antioxidatív tulajdonságát biztosítja és hatékonyabban véd a lipidperoxidációk ellen a membrán teljes vastagságában, mint a  $\beta$ -karotin, amit alátámaszt a HPLC-as elemzés során kapott eredményünk is, mely megmagyarázza a kadmium hatására képződő többlet astaxantin mennyiségét.

Összefüggést állapítottunk meg a törzsek polaritása és fázistranzíciós hőmérsékletük között, mely alapján következtethetünk a törzsek karotinoidjainak polaritása alapján azok membrándinamikai tulajdonságaira.

A **Cr(VI) vegyületek** cito- és genotoxikus hatását vizsgáltuk *S. pombe* szülői törzsén *6chr<sup>+</sup>* és Cr(VI)-toleráns *chr1-66T* mutánsán EPR technikával, melynek során megállapítottuk, hogy mindkét törzs redukálja a Cr(VI)-ot Cr(III)-á Cr(V)-ön keresztül, viszont a mutáns törzs Cr(V) redukációs aktivitása jóval alacsonyabb a szülői törzshöz viszonyítva. Cr(V) koncentrációk meghatározásakor szignifikánsan alacsonyabb szintet mértünk a toleráns mutáns esetében (10,3  $\mu$ M), míg a szülői törzsnél

jelentősen magasabbat (59,0  $\mu\text{M}$ ). A króm toleráns mutánsnak az alacsonyabb intracelluláris  $\text{H}_2\text{O}_2$  koncentrációja és emelkedett  $\text{O}_2^{\cdot-}$  gyök szintje. A Fenton-típusú reakcióban nincs jelentős szerepe a  $\text{O}_2^{\cdot-}$  gyöknek, a króm-toleranciát a Fenton reakción keresztül a kevesebb mennyiségben keletkező  $\text{H}_2\text{O}_2$  okozza.

NADPH-t adva a feltárt Cr(VI)-tal kezelt sejtekhez, a toleráns mutánsnál a Cr(V) koncentráció 2,8-szeres növekedést mutatott, míg a *6chr<sup>+</sup>* törzsnél a NADPH nem növelte meg jelentősen a Cr(V) mennyiségét (59,0  $\rightarrow$  59,3  $\mu\text{M}$ ). Ha a feltárt törzseket  $\text{H}_2\text{O}_2$ -dal is kezeltük, a Cr(VI) és a NADPH mellett, akkor a Cr(V) koncentráció lecsökkent mindkét törzsnél a Fenton reakció miatt. A *chr1-66T* toleráns mutánsnál minden összeállított kísérleti körülménynél  $\cdot\text{OH}$  gyök koncentrációja, hasonlóan a Cr(V) mennyiségéhez szintén alacsonyabb. Ezért feltételezhetjük, hogy a nagyobb mennyiségű NADPH - amely a fokozott G6PD enzim túlműködés következménye - nem tudja kompenzálni a GR enzimaktivitás miatt létrejött csökkent Cr(VI) redukciós kapacitást. Így azt valószínűsítjük, hogy a GSH mellett a GR/NADPH redukciós rendszer az, ami a meghatározó szerepet játszik a Cr(VI)  $\rightarrow$  Cr(III) redukciós folyamatban. Ezen kísérleti eredményeket beillesztve a Tanszékünk kutatási eredményeibe összefoglalva megállapítható a *S. pombe chr1-66T* Cr(VI) toleráns mutáns GR *pgr1<sup>+</sup>* génjében bekövetkezett egy génes mutáció, melynek eredményeként csökkent a GR specifikus enzimaktivitás és a GSH tartalom az, ami csökkentette a Cr(VI) redukáló képességét és ezzel együtt a Cr(VI) bioakkumulációt is, mivel a Cr(VI) transzporter redoxérzékeny. A  $\text{H}_2\text{O}_2$  koncentrációja alacsonyabb a Cr(VI)-toleráns mutánsnak, de ezzel szemben a  $\text{O}_2^{\cdot-}$  gyök koncentrációja magasabb, amely valószínűsíthetően a mitokondriálisan lokalizált alacsonyabb specifikus aktivitású Mn-SOD következménye. Végeredményben a Cr(VI)-tolerancia végső oka a toleráns mutánsban a csökkent Cr(VI) redukciós kapacitás, amely csökkent Cr(VI) felvételt eredményezett. Ezt a megállapítást támasztja alá, hogy ha a toleráns mutáns transzformánsaiban megnöveljük a GR specifikus aktivitást, akkor a Cr(VI) tolerancia megszűnik és a toleráns mutáns a szülői törzsszel azonos krómérzékenységet mutat.

## ÖSSZEFOGLALÁS

Kísérleteink során megállapítottuk, hogy a szülői törzs *CBS 6938*-as és a *C31*-es mutánsa főként poláros **karotinoid**okat, míg a *C29*-es és *C30*-as mutáns törzsek apoláros karotinoidokat termelnek.  $\text{Cd}^{2+}$  és  $\text{H}_2\text{O}_2$  kezelés hatására a törzsek karotinoid mennyisége kis mértékben megnövekedett, mely azt jelenti, hogy a karotinoidok aktívan részt vesznek mindkét stresszor által kiváltott szabadgyökök eliminálásában, ill. káros következményeinek csökkentésében. A  $\text{Cd}^{2+}$  indukálta ROS-eket jellemzően a poláros karotinoidok csökkentik hatékonyabban, míg a  $\text{H}_2\text{O}_2$  okozta következményeket az apoláros karotinoidok. Ezekből az eredményekből, arra a következtetésre jutottunk, hogy összefüggés van az adott karotinoid szerkezete és reaktivitása között, valamint az indukciót kiváltó szabadgyök fajtája között.

Megállapítottuk, hogy a poláros karotinoidok fázistranzíciós hőmérsékletet csökkentő hatásából, hogy a poláros karotinoidok feje perturbációt okoz a lipid kettős réteg poláros felszínén, és a zsírsavak szénhidrogénláncának a rendezettségét növelik. Az apoláros karotinoidoknak nincs perturbáló hatása a membrán felszínére, viszont a zsírsavláncok belső elrendeződését csökkentik. Összefüggést figyeltünk meg a karotinoidok polaritása és a fázistranzíciós hőmérséklete között, mely szerint a polárosabb karotinoidok nagyobb fázistranzíciós hőmérséklet csökkentő hatással rendelkeznek, mint a kevésbé polárosok vagy az apolárosok. Eddigi eredményeink azt mutatják, hogy a karotinoidoknak a membránra gyakorolt hatása igen sokrétű, melyet több tényező is befolyásolhat, úgymint a karotinoidok polaritása, elhelyezkedési módja, a membrán tulajdonságai (összetétele, vastagsága), amely további információt szolgáltat a karotinoidokról a plazmamembránban betöltött szerepéről.

A **Cr(VI) vegyületek** cito- és genotoxikus hatását is vizsgáltuk *S. pombe* szülői *6chr<sup>+</sup>* törzsén és Cr(VI)-toleráns *chr1-66T* mutánsán, melynek során megállapítottuk, hogy mindkét törzs redukálja a Cr(VI)-ot Cr(III)-á

Cr(V)-ön keresztül, viszont a mutáns törzs Cr(V) redukciós aktivitása jóval alacsonyabb a szülői törzsnél, mely a toleráns mutáns glutation reduktáz *pgr1*<sup>+</sup> génjében bekövetkezett mutációjának a következménye. Ennek hatására csökkent a GR specifikus enzimaktivitása és a GSH tartalma, ami lecsökkentette a Cr(VI) redukáló képességet és a Cr(VI) bioakkumulációt is, mert a Cr(VI) transzporter redoxérzékeny. A H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> koncentrációja is alacsonyabb a Cr(VI)-toleráns mutánsnak, de ezzel szemben a O<sub>2</sub><sup>•-</sup> koncentrációja magasabb, amely valószínűsíthetően a mitokondriálisan lokalizált alacsonyabb specifikus aktivitású Mn-SOD következménye.

**AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ NEMZETKÖZI FOLYÓIRATBAN MEGJELENT TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK:**

**Blaskó, Á.,** Belágyi, J., Dergez, T., Deli, J., Papp, G., Papp, T., Vágvölgyi, Cs. and Pesti, M. Effect of polar and non-polar carotenoids on *Xanthophyllomyces dendrorhous* membranes by EPR European Biophysics Journal 37. (2008) pp. 1097-1104. IF: 2.409.

Gazdag, Z., Pócsi, I., Belágyi, J., Emri, T., **Blaskó, Á.,** Takács, K. and Pesti, M. Chromate tolerance caused by reduced hydroxyl radical production and decreased glutathione reductase activity in *Schizosaccharomyces pombe*. Journal of Basic Microbiology 43. (2003) pp. 96-103. IF: 0.839

**AZ ÉRTEKEZÉSBEN NEM SZEREPLŐ NEMZETKÖZI FOLYÓIRATBAN MEGJELENT TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK:**

Horváth, E., Papp, Gazdag, Z., Belágyi, J., **Blaskó, Á.,** Deli, J., Vágvölgyi, Cs. and Pesti, M. Characterization of stress processes of *Phaffia rhodozyma* stress-resistant mutant. Acta Biologica Hungarica (in press) 62. (2) (2011).

**AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ POSZTEREK, ELŐADÁSOK:**

**Blaskó, Á.**, Belágyi, J., Deli, J., Papp, G., Papp, T., Vágvölgyi, Cs. and Pesti, M. The plasma membranes dynamics of *Xanthophyllomyces dendrorhous* carotenoid mutants. Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica 55. (2008) pp. 178.

**Blaskó, Á.**, Belágyi, J., Dergez, T., Deli, J., Vágvölgyi, Cs., Pesti, M. The Use of EPR to determine the plazma membrane dinamics of *Xanthophyllomyces dendrorhous* and the effect on its various carotenoid types. Regional Biophysics Conference, Balatonfüred, Hungary, Abstract Book (2007) pp. 103.

Horváth, E., Papp, G., **Blaskó, Á.**, Belágyi, J. and Pesti M. Characterization of a carotenoid deficient mutant strain of *Phaffia rhodozyma*. Acta Microbiologia et Immunologica Hungarica 53. (2006) pp. 276.

**Blaskó, Á.**, Dergez, T., Belágyi, J., Deli, J., Olah, P., Pesti, M., Carotenoids in *Phaffia rhodozyma* and *Xanthophyllomyces dendrorhous*, 6th Summer School in Prague, Czech Republic, May 29 - June 4. (2005)

**Blaskó Á.**, Belágyi J., Dergez T., Deli J., Vágvölgyi Cs., Pesti M. Effect o faltered carotenoid composition of *Phaffia rhodozyma* and *Xanthophyllomces dendrorhous* on the plasma membrane order parameter. Magyar Mikrobiológiai Társaság Naggyűlése és a X. Fermentációs Kollokvium, Keszthely, (2004) Hungary

**AZ ÉRTEKEZÉSBEN NEM SZEREPLŐ POSZTEREK, ELŐADÁSOK:**

Fekete, A., Emri, T., Gazdag, Z., **Blaskó, Á.**, Majoros, L., Nagy, E., Balla, J., Varga, Zs., Pesti, M., Pócsi, I., Gergely, L. Egy lipid-peroxid toleráns *Candida albicans* mutáns jellemzése. Magyar Mikrobiológiai Társaság Naggyűlése, Keszthely (2004) pp. 34.

Takács, K., **Blaskó, Á.**, Gazdag, Z., Pesti, M. Sensitivity on *Schizosaccharomyces pombe* signal transductuin mutant to heavy metal and oxidative stresses. Acta Microbiologica et Immunologica Hungaric 51. (2004) pp. 128.

Takács, K., **Blaskó, Á.**, Gazdag, Z., Pesti, M. *Schizosaccharomyces pombe* jelátviteli mutánsainak nehézfém és oxidatív stressz érzékenysége. A Magyar Mikrobiológiai Társaság Naggyűlése, Balatonfüred, Hungary (2002) pp. 19.

