

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

***Aspergillus* fajok stresszválaszainak
vizsgálata**

Emri Tamás



Debreceni Egyetem, Természettudományi és Technológiai Kar
Molekuláris Biotechnológiai és Mikrobiológiai Tanszék

Debrecen

2019

TARTALOMJEGYZÉK

BEVEZETÉS.....	3
CÉLKITŰZÉSEK.....	4
EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉSÜK	5
<i>AZ ASPERGILLUS NIDULANS OXIDATÍV STRESSZVÁLASZA.....</i>	5
<i>Az oxidatív stressz hatása a transzkriptomra</i>	6
<i>A transzkriptom változásai által megjósolható néhány stresszválasz elem.....</i>	8
<i>Az atfA génelécio hatása az A. nidulans oxidatív stresszválaszaira..</i>	9
<i>Az oxidatív stressz és az atfA delécio hatása a szekunder anyagcserére</i>	11
<i>AZ ASPERGILLUS NIDULANS SZÉNÉHEZÉSRE ADOTT STRESSZVÁLASZÁNAK VIZSGÁLATA</i>	13
<i>A szénéhezés hatása a transzkriptomra.....</i>	14
<i>EngA β-1,3-endoglükánáz és szerepe a szénéhezésre adott stresszválaszban</i>	16
<i>A GgtA γ-glutamil transzpeptidáz és jelentősége a szénéhezésre adott stresszválaszban</i>	18
<i>AZ ASPERGILLUS PACHYCRISTATUS ECHINOCANDIN TOLERANCIÁJA.....</i>	19
<i>AZ ASPERGILLUS FUMIGATUS STRESSZ TOLERANCIÁJÁNAK VIZSGÁLATA</i>	23
<i>Stresszgének előfordulása Aspergillus fajok genomjában.....</i>	23
<i>Az Aspergillus fumigatus kombinatórikus stresszválasza.....</i>	27
TÉZISPONTOK	31
TUDOMÁNYMETRIAI ADATOK.....	34
AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK LISTÁJA	35
A DOLGOZAT TÉMÁJÁHOZ KAPCSOLÓDÓ TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK LISTÁJA	36
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	42
IRODALOMJEGYZÉK	44

Bevezetés

A stressz, stresszor és stresszválasz fogalmakat több mint 80 évvel ezelőtt a sokak által „az orvosi kutatások Einsteinje”-ként is emlegetett Selye János alkotta meg (Selye 1936, Szabó és munkatársai 2012). A stressz kifejezést ma már a biológia számos területén, így a mikológiában is gyakran használják; többnyire egy olyan külső hatást értenek rajta, amely veszélyezteti a gombák túlélését, vagy legalábbis megakadályozza optimális működésüket, csökkenti a fitnesszüket (Hohmann és Mager 2003, Hallsworth 2018). A gombák stresszválaszai kutatásának lényege, hogy a sejtek működését nem az optimális („stresszmentes”) körülmények között vizsgáljuk, hanem viselkedésüknek, biokémiai és jelátviteli hálózataik szerveződésének lényegét olyan módon próbáljuk megragadni, hogy kimozdítjuk őket ideális életfeltételeik közül és megvizsgáljuk, hogy hogyan reagálnak e hatásokra. Ezen kutatások hozzájárulnak a jelátviteli hálózatok felépítésének és működésének megértéséhez, segítenek megvilágítani számos gén, fehérje, biokémiai folyamat, sejtsejtszervecske élettani jelentőségét és lehetővé teszik a mikrovilág nagyfokú diverzitása mögötti okok mélyebb megértését. A kapott eredmények gyakorlati szempontból is érdekesek: hozzájárulnak ahhoz, hogy megértsük és kontrollálni tudjuk például egy immunkomprimált beteg szervezetében, egy fermentorban, vagy éppen a raktározott élelmiszereinken, takarmányon, esetleg a műkincseinken megtelepedő gombák viselkedését.

Dolgozatomban *Aspergillus* fajok stresszválaszainak vizsgálatával kapcsolatos legfontosabb eredményeinket mutatom be. E vizsgálatok az *Aspergillus nidulans* laboratóriumi modell organizmus oxidatív

stresszválaszával és szénéhezésre adott stresszválaszával, az echinocandin B (ECB) termelő *Aspergillus pachycristatus* („*Aspergillus nidulans* var. *roseus*”) echinocandin toleranciájával, illetve a humán patogén *Aspergillus fumigatus* stresszgén készletének jellemzésével és a vaséhezéssel kombinált oxidatív stresszhez való alkalmazkodásával kapcsolatosak.

Célkitűzések

1.1 Azonosíthatóak-e az oxidatív stresszválaszra általánosan jellemző gének az *A. nidulans*ban? Részt vesz-e az AtfA transzkripció faktor a szabályozásukban?

1.2 Milyen AtfA-függő és AtfA-független stresszválasz elemek figyelhetők meg oxidatív stressznek kitett *A. nidulans* tenyészetekben?

1.3 Hogyan befolyásolja az oxidatív stressz és az AtfA transzkripció faktor az *A. nidulans* szekunder anyagcseréjét?

2.1 Az *A. nidulans* tenyészetek transzkriptomában szénéhezés hatására végbemenő változások azonosítása; átfogó kép kialakítása a szénéhezésre adott stresszválaszról.

2.2 Egy szénéhezés alatt szekretálódó glükánáz izolálása *A. nidulans* tenyészetekből; a fehérjét kódoló gén azonosítása, az enzim jellemzése, fiziológiai jelentőségének (különös tekintettel az autolitikus sejtfaldegradációban – ASD – betöltött szerepére) megismerése.

2.3 Az ASD és a konidiogenezis közötti feltételezett kapcsolat (miszerint az autolitikus sejtfaldegradáció tápanyagokat biztosíthat a konidiogenezis számára szénéhező körülmények között) tesztelése felületi kultúrákban.

2.4 A szénéhező tenyészetekre jellemző melanizáció okainak és fiziológiai szerepének feltérképezése.

2.5 Az *A. nidulans* γ -glutamil transzpeptidázának (γ GT) izolálása, a fehérjét kódoló gén azonosítása, az enzim jellemzése, fiziológiai jelentőségének (különös tekintettel a glutation – GSH – anyagcserében betöltött szerepére) megismerése.

3.1 Rendelkezik-e az echinocandin termelő *Aspergillus pachycristatus* ATCC 58397 törzs veleszületett echinocandin rezisztenciával?

3.2 Hogyan védekezik e törzs a saját maga által termelt echinocandinnal szemben?

4.1 Megjósolható-e egy gombafaj stressz toleranciája annak ismeretében, hogy milyen stresszgének fordulnak elő a genomjában?

4.2 Hasonló-e a közeli rokon fajok stresszgén készlete és stressz toleranciája?

4.3 Eltér-e az *A. fumigatus* stresszgén készlete a kisebb humánpatogén jelentőséggel bíró *Aspergillus* fajokétól?

5.1 Hogyan befolyásolja az oxidatív stressz az *A. fumigatus* vaséhezésre adott stresszválaszát?

5.2 Megjósolható-e a kombinált stressz kezeléseknél mutatott stresszválasz az egyszerű stressz kezelésekre adott stresszválaszok ismeretében?

5.3 Melyek az oxidatív stresszel kombinált vaséhezésre adott stresszválasz lehetséges gyenge pontjai?

Eredmények és megbeszélésük

Az Aspergillus nidulans oxidatív stresszválasza

DNS chippek segítségével egy *A. nidulans* $\Delta atfA$ mutáns és egy kontroll törzs oxidatív stresszválaszát tanulmányoztuk 0,12 mM menadion Na-biszulfit (MSB), 5 és 75 mM H_2O_2 (l- H_2O_2 és h- H_2O_2), 0,8 mM *terc*-

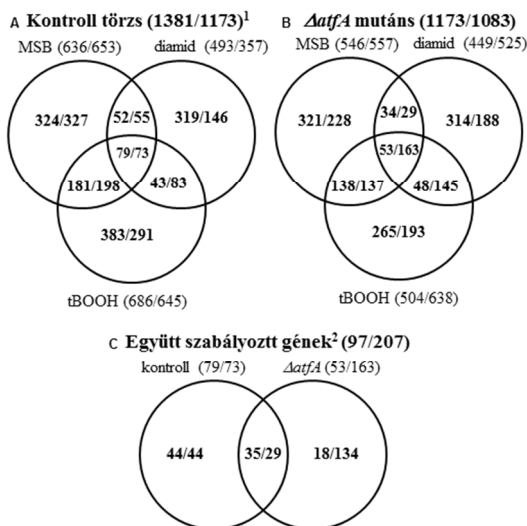
butilhidroperoxid (tBOOH), illetve 1,8 mM diamid jelenlétében. A transzkripcióban bekövetkezett változásokat mintegy 100 gén esetében RT-qPCR (reverztranszkriptáz kvantitatív polimeráz láncreakció) segítségével is ellenőriztük (a Pearson-féle korrelációs koefficiensek értékei 0,71 és 0,88 között voltak).

Az oxidatív stressz hatása a transzkriptomra

Gasch és munkatársai (2000) 13 stressznek a *Saccharomyces cerevisiae* transzkriptomára gyakorolt hatását megvizsgálva azt tapasztalták, hogy a gének egy része (868 gén) minden esetben indukálódott (283 gén), vagy minden esetben represszálódott (585 gén) a stresszor típusától függetlenül („együtt szabályozott” gének). E gének által közvetített stresszválaszt nevezték el környezeti stresszválasznak (ESR; Environmental Stress Response) (Gasch és munkatársai 2000, Gasch 2003). A transzkriptom hasonló viselkedését írták le a *Candida glabrata* (752 ESR gén; Roetzer és munkatársai 2008) és a *Lachancea kluyveri* (880 ESR gén; Brion és munkatársai 2016) élesztőkkel folytatott vizsgálatok alapján is. A *Schizosaccharomyces pombe* esetében ugyanakkor csak 140 (Chen és munkatársai 2003), míg a *Candida albicans* esetében csak 61 (Enjalbert és munkatársai 2006) olyan gént találtak melyek a stressz típusától függetlenül ugyanúgy reagáltak a kezelésekre.

Az *A. nidulans* esetében elmondható, hogy a stressz specifikus gének száma az összehasonlított kezelésektől függetlenül nagy volt, míg az együtt szabályozott gének száma az összehasonlított kezelések számával egyre inkább csökkent. E tendenciákat az *atfA* gén delécioja nem változtatta

meg érdemben. A fentieket jól szemlélteti az 1. ábra, ahol a három, egymáshoz leginkább hasonló stresszkezelés transzkriptomra gyakorolt hatásai vannak összefoglalva. A stressz specifikusan szabályozott gének száma mintegy 3-4,4-szerese (kontroll törzs), illetve 2-2,5-szerese (*ΔatfA* mutáns) volt az együtt szabályozott gének számának. Az 1C ábrán az is látszik, hogy bár az együtt szabályozott gének száma hasonló volt a kontroll és a mutáns törzsben, a két géncsoport között jelentős átfedés nem volt.



1. ábra Az MSB, tBOOH és diamid kezelés hatása az *A. nidulans* transzkriptomára
¹ – Az ábrákon a D1 teszt segítségével (Patel és Lyons-Weiler 2004, Jordan és munkatársai 2008) meghatározott indukálódott/represszálódott gének száma van feltüntetve (kezelt vs. kezeletlen). D1 > 3 – indukció („up-regulation”); D1 < -3 – represszió („down-regulation”).
² – Együtt szabályozott gének („co-regulated genes”) – mindhárom kezelésben indukálódott, vagy mindhárom kezelésben represszálódott gének.

Azaz a delécio hatására bizonyos gének kikerültek az együtt szabályozott gének csoportjából (összesen 88 gén), míg más gének bekerültek ebbe a csoportba (összesen 152 gén). Az a kép, amit az ESR fogalma sugall, miszerint a stresszválasznak van egy stresszre specifikus (variábilis) és egy stressz típusától független (konzervatív) eleme, az *A. nidulans* esetében még különféle oxidatív stresszek esetén sem állja meg a helyét. A transzkriptom szintjén detektált (oxidatív) stresszválaszok – legalábbis e fajnál – egyediek, ami a gének igen komplex és flexibilis szabályozottságára utal.

A transzkriptom változásai által megjósolható néhány stresszválasz elem

A stressz-függő génekhez köthető biológiai folyamatok azonosítása érdekében géncsoport dúsulási vizsgálatokat („gene set enrichment analysis”) végeztünk az MSB, tBOOH és diamid stresszkezelések adatainak felhasználásával. Az egyedi (stressz specifikus) transzkriptom adatokkal összhangban (1. ábra), több olyan biológiai folyamatot is azonosítottunk, amely a három vizsgált stresszválasz közül csak az egyikre volt jellemző:

A szuperoxid termelő MSB-vel végzett kezelés hatására számos, az endoplazmatikus retikulum (ER) működéséhez köthető gén represszálódott, míg a FeS klaszter fehérjék képződésében részt vevő gének egy része indukciót mutatott. A tBOOH kezelés ugyanakkor a peroxisómák működéséhez köthető folyamatok (transzkripcionális szintű) aktiválódásával járt együtt. Meglepő módon a szideroför bioszintézis út génjeinek indukálódása szintén jellemző volt a tBOOH indukált stresszre.

A stresszválaszok transzkriptom szinten megfigyelt egyedisége ellenére több géncsoport esetében is (pl. riboszómák képződéséhez

szükséges gének és a mitótikus sejtosztódásban közreműködő gének repressziója, valamint az antioxidáns gének indukciója) azt tapasztaltuk, hogy indukciójuk, illetve repressziójuk mindhárom stresszkezelésre jellemző volt. Fontos kihangsúlyozni azonban, hogy a mindhárom kezelés hatására indukciót/repressziót mutató folyamatok hátterében nem szükségszerű, hogy együtt szabályozott gének álljanak. A legkarakterisztikusabb példát a riboszóma biogenezis gének képviselik: 114 repressziót mutató gén közül csak egy olyan volt, amely mindhárom stressz alatt represszáldott. Azaz, ha a stresszválaszok transzkriptom szinten egyediek is, az nem jelenti azt, hogy a sejtek fiziológiájában ne lehetnének jelentősebb átfedések.

Az atfA géndeléciónak hatása az A. nidulans oxidatív stresszválaszaira

Az *atfA* gén deléciónak következtében az oxidatív stressznek kitett tenyészetek transzkriptomában bekövetkezett változásokra a következők voltak jellemzőek:

1) Jelentős volt a közvetett hatás. AtfA hiányában igen sok és sokféle biológiai folyamathoz (pl. FeS klaszter szintézis, ER-Golgi transzport, citromsav-ciklus, zsírsav metabolizmus, légzés, riboszóma biogenezis, mitótikus sejtosztódás) köthető gén aktivitása változott meg és nagyjából azonos arányban voltak detektálhatóak AtfA-függő indukciót, illetve AtfA-függő repressziót mutató gének. E változások megmagyarázhatóak, ha feltételezzük, hogy az AtfA (közvetlenül, vagy közvetve) jelátvitelben fontos gének működését (is) befolyásolja. Az AtfA-függő viselkedést mutató jelátviteli gének közül a kétkomponensű szignál transzdukciós

rendszer elemeit (*tcsA*, *hk-2*, *hk-8-2*, *hk-8-3*, valamint a *phkB* és *hk-8-6*) érdemes kiemelni, hiszen irodalmi adatok alapján is elképzelhető, hogy az AtfA a kétkomponensű szignál transzdukciós fehérjékre gyakorolt hatása révén jelentősen modulálja a jelátviteli hálózat működését és ezen keresztül a stresszválaszokat (Hagiwara és munkatársai 2009, Miskei és munkatársai 2009, Pereira Silva és munkatársai 2017).

2) Jelentős volt az indirekt hatás. AtfA hiányában igen sok gén vált stressz-függővé, illetve sok stressz-függő gén olyan kezelésekben is stressz-függést mutatott, amelyekben AtfA jelenlétében nem. Példaként említhető, hogy összesen 704 olyan gén indukálódott, vagy represszálódott a mutánsban, amely a kontroll törzsben jelentős transzkripciós változást nem mutatott és mintegy 312 gén a kontroll törzsben csak tBOOH hatására, a *ΔatfA* mutánsban azonban MSB hatására (is) indukálódott/represszálódott.) E változások alapján feltételezhető, hogy az AtfA részt vesz jelátviteli folyamatok gátlásában. Ez jelenthet direkt gátlást (az AtfA megakadályozza valamely jelátviteli útvonal működését), de jelenthet – és feltehetőleg ebből van több – indirekt gátlást is: AtfA hiányában a stresszválasz nem elég gyors/adekvát, ami erősebb stresszhatáshoz, illetve másodlagos stresszhatások aktiválódásához és ezen keresztül új stresszválasz elemek aktiválódásához vezet.

3) Jelentős volt a stressz specifikus hatás. Az *atfA* gén inaktiválása eltérő stressz kezelésekben eltérő gének működését változtatta meg. E változások megmagyarázhatóak, ha feltételezzük, hogy az AtfA együttműködik más transzkripciós faktorokkal és/vagy jelátviteli fehérjékkel és bizonyos géneket csak ezen együttműködés révén tud szabályozni. Az együttműködés lehet direkt fizikai interakció, azaz egy fehérje-komplex kialakulására van

szükség ahhoz, hogy az AtfA hatása érvényesüljön, de a kooperáció más módon is megvalósulhat. Az, hogy bZIP típusú transzkripciós faktorok heterodimert képezve (is) ki tudják fejteni hatásukat, régóta ismert (Reinke és munkatársai 2013) és a gombák bZIP transzkripciós faktorai is jellemzőek, beleértve a *S. pombe* Atf1-et is (Sansó és munkatársai 2008, Vo és munkatársai 2016).

A fent említett „közvetett”, „indirekt” és „stressz specifikus” hatások természetesen más transzkripciós faktor-, illetve jelátviteli fehérje gének inaktiválása esetén is megfigyelhetők, és e transzkripciós változások komoly problémát okoznak a transzkripciós faktor/jelátviteli út vonal által közvetlenül szabályozott gének azonosításakor. Jelenlétük, erősségük ugyanakkor igen informatív; azt demonstrálják, hogy a kérdéses fehérje fontos eleme a jelátviteli hálózat működésének, hiánya csak a transzkriptom jelentős mértékű megváltozásával ellensúlyozható. Az AtfA feladata feltehetőleg nem az, hogy egy jól meghatározott géncsoportot bekapcsoljon oxidatív stressz alatt és e gének által kódolt fehérjék megvédjék a sejteket az oxidatív stressz káros hatásaitól, hanem inkább az, hogy modulálja a jelátviteli hálózat működését stressz alatt és ezáltal lehetővé tegye az adott stresszben legelőnyösebb stresszválasz kialakulását.

Az oxidatív stressz és az atfA deléció hatása a szekunder anyagcserére

Az oxidatív stressz számos mikotoxin képződését befolyásolja („oxidative stress theory of mycotoxin biosynthesis”; Reverberi és munkatársai 2010a). A legtöbb esetben azt mutatták ki, hogy az oxidatív stressz indukálja a mikotoxin termelést, míg a gomba antioxidáns

aktivitásának növelése vagy antioxidáns molekulák adagolása gátolja azt (Beekrum és munkatársai 2003, Torres és munkatársai 2003, Fanelli és munkatársai 2004, Reverberi és munkatársai 2005, Ponts és munkatársai 2006, 2007, Reverberi és munkatársai 2010a, 2010b). Az *A. nidulans* genomjában több mint 60 szekunder metabolit génklaszter található (Inglis és munkatársai 2013). Csak néhány esetben ismert a klaszterhez tartozó termék, a legtöbb klaszter termékét azonban eddig még nem azonosították, így e klaszterek működése csak transzkripciós szinten vizsgálható.

Kísérleteinkben 5 szekunder metabolit génklaszter indukcióját figyeltük meg az MSB, a tBOOH, illetve a diamid által okozott oxidatív stressz alatt (AN7884 klaszter, dba-F9775 hibrid klaszter 2, AN1680 klaszter, AN6236 klaszter és AN10486 klaszter). A stressz azonban nemcsak indukált, de represszált is szekunder metabolit génklasztereket (eas klaszter, AN2924 klaszter, wA klaszter, AN12331/AN7838 klaszter, mic klaszter és “No PKS/NRPS backbone” 4 klaszter). Az indukció, illetve a represszió a szekunder metabolit kulcsgének és klasztergének felét, a klaszterek mintegy ötödét érintette. Összességében elmondható, hogy az (oxidatív) stressz hatással volt a szekunder metabolit klaszterek transzkripciójára, de e hatás klaszter-specifikus: egyes klaszterekre az indukció, más klaszterekre a represszió volt jellemző és a klaszterek jelentős része nem reagált az adott kezelésre. Ez egyben azt is jelenti, hogy azok a stratégiák, amelyek a szekunder anyagcsere stressz-függő szabályozottságát használják ki a mikotoxin termelés visszaszorítására (pl. antioxidáns anyagok alkalmazása; Torres és munkatársai 2003) hatékonyak lehetnek egy, vagy több mikotoxin esetében is, de új, eddig nem ismert

hatású szekunder metabolitok képződését segíthetik elő. E nem kívánt hatás meglétét érdemes lehet minden új módszer kidolgozásánál ellenőrizni.

Az *atfA* gén deléciója jelentős változást okozott a szekunder anyagcserében. Stressz mentes körülmények között az *atfA* gén hiánya 4 klaszter (monodiktifenon, pkf, ivo klaszterek és a benzaldehid-F9775 hibrid klaszter 1) transzkripcióját indukálta. A fentiek alapján az AtfA – más fajokhoz hasonlóan (Temme és munkatársai 2012, Van Nguyen és munkatársai 2013) – az *A. nidulans* gombában is befolyásolja nemcsak az oxidatív stressz toleranciát, de a szekunder anyagcserét is. Feltételezhető, hogy az AtfA ebben az esetben sem közvetlenül szabályozza a szekunder metabolit klaszterek aktivitását, hanem közvetett módon, pl. a szekunder anyagcserét globálisan szabályozó RsmA (Shaaban és munkatársai 2010, Yin és munkatársai 2013) transzkripciós faktorra gyakorolt hatásán keresztül hat. Az *atfA* deléciója önmagában, vagy oxidatív stresszel kombinálva alkalmas lehet alvó („cryptic”) szekunder metabolit klaszterek aktiválására.

Az Aspergillus nidulans szénéhezésre adott stresszválaszának vizsgálata

Vizsgálatainkban klasszikus mikrobiális fiziológiai megközelítést alkalmaztunk: A szénéhező *A. nidulans* tenyészetek fermentlevéből oszlopkromatográfia segítségével egy glükánázt és egy γ GT-t izoláltunk, majd azonosítottuk a fehérjét kódoló gént. Az enzimek lehetséges funkcióit a megfelelő deléciós törzsek vizsgálatával, illetve a tisztított enzimek jellemzésével próbáltuk kideríteni. A transzkriptom szénéhezésre

bekövetkezett változásának detektálásával nyert adatok, illetve az azokból kialakított átfogó kép igen hasznos segítséget nyújtott eredményeink értelmezésében.

A szénéhezés hatása a transzkriptomra

Kísérletünkben az *A. nidulans* FGSC A26 törzs szénéhező tenyészetének transzkriptomát hasonlítottuk össze a glükózon növekvő tenyészetek transzkriptomával. A transzkripciós változásokat 99 gén esetében RT-qPCR-rel is megvizsgáltuk; a Pearson-féle korrelációs koefficiens értéke 0,78 volt. A transzkriptomban bekövetkező változások alapján a szénéhezésre adott stresszválasz legfontosabb elemei az alábbiak voltak:

1) A sejtfalszintézis – sejtfallebontás egyensúlya a lebontás irányába tolódott el.

Számos, a sejtfal bioszintézisben potenciálisan résztvevő gén represszióját figyeltük meg, ezzel párhuzamosan a sejtfal lebontásában közreműködő, illetve potenciálisan közreműködő gének indukálódtak. A sejtfal lebontásában közreműködő gének mellett a glükózamin-6-foszfát izomeráz, illetve az N-acetil-glükózamin-6-foszfát deacetiláz génjei (AN1418 és AN1428) illetve számos nagy affinitású glükóz transzporter génje (*mstA*, *mstC* és *hxtA*) is indukálódott. E transzkripciós változások azt sugallják, hogy a sejtek nemcsak lebontják az elhalt sejtek sejtfalát (Emri és munkatársai 2008, van Munster és munkatársai 2016), de fel is használják az így nyert monomereket.

2) Programozott sejthalálban fontos gének indukálódtak.

Kísérletünkben 5 autofágiához köthető gén (AN2876, AN5174, *tipA*, AN4601 és AN7428) indukcióját figyeltük meg (Pollack és munkatársai 2009). E gének indukciója arra utal, hogy a makroautofágia aktiválása már a szénéhezésre adott korai stresszválasznak is a része és nemcsak a hosszan éhező tenyészetek sajátossága (Kikuma és munkatársai 2006, Kim és munkatársai 2011, Nitsche és munkatársai 2013, Pinar és munkatársai 2013). Az *A. nidulans* apoptózisában közreműködő gének (*aifA*, *casA*, *pyrpA*) azonban nem indukálódtak.

3) A szén és nitrogén anyagcserében az egyensúly a glükóztól eltérő potenciális energiaforrások katabolizmusa felé tolódott el.

A glikolízis, oxidatív pentóz-foszfát út, citromsav ciklus és légzés meghatározó génjei represszáldottak. Nukleáz, proteináz, lipáz, di-, oligo- és poliszacharid hidrolizáló enzim gének, valamint az aminosav, nukleotid és lipid anyagcserében érintett katabolikus gének indukálódtak.

4) A fehérje szekrécióban fontos gének indukálódtak.

Kísérletünkben 50, fehérjeszintézishez köthető gén indukciót mutatott és csak 16 represszáldott. Az indukálódtak gének egy jelentős része az ER-hez köthető és a fehérje szekrécióban vesz részt. A fenti változások feltehetőleg arra utalnak, hogy bár a szénéhezéssel párhuzamosan leáll a növekedéshez köthető nagy volumenű fehérjeszintézis, a szénéhezést kísérő intenzív fehérje szekréció miatt nincs lehetőség a fehérjeszintézisben részt vevő gének olyan nagy számban történő represszállására, mint amit az oxidatív stressz kapcsán korábban megfigyeltünk.

EngA β -1,3-endoglükánáz és szerepe a szénéhezésre adott stresszválaszban

Az *A. nidulans* FGSC A26 törzs szénéhező tenyészeiből kromatofókuszálás segítségével megtisztítottunk egy laminarináz (β -1,3-glükánáz) aktivitást mutató fehérjét (EngA). A tripszines emésztést követő MALD-TOF analízis alapján a fehérje az AN0472 gén terméke volt. Az enzim sem β -1,4-glükánáz (karboximetil-celullóz szubsztráttal), sem β -glükózidáz (*p*-nitrofenil- β -D-glükóz szubsztráttal) aktivitást nem mutatott; pH optimuma 6,5-nek adódott, de jelentős aktivitással és stabilitással rendelkezett a 6,5-8,5 pH tartományban. Mindezek alapján az EngA jelentős β -1,3-endoglükánáz aktivitást képes kifejteni a szénéhező tenyészetekre jellemző lúgos pH-n is (Pusztahelyi és munkatársai 1997, Emri és munkatársai 2004a).

Az *enga* gén delécioja gátolta a fonalak darabolódását, valamint a szárazanyag tartalom csökkenését is, hasonlóan ahhoz, amit korábban a *Δ chiB* törzsnél tapasztaltunk (Pócsi és munkatársai 2009). A *Δ enga Δ chiB* duplamutáns viselkedése nem tért el érdemben a *Δ enga* vagy a *Δ chiB* törzsétől. Mindezek alapján elmondható, hogy a ChiB edokitináz és az EngA β -1,3-endoglükánáz egyaránt szükséges a szénéhező tenyészetek ASD-jához.

Felületi kultúrákban a *Δ chiB Δ enga* duplamutáció nem befolyásolta érdemben a tenyészetek növekedését. Azaz, az ASD – szemben a makroautofágiával (Kikuma és munkatársai 2006, Nitsche és munkatársai 2013, Richie és munkatársai 2007) – nem segíti (kimutatható mértékben) a telep radiális irányban való terjeszkedését a telep középső részeinek újrahasznosításakor felszabaduló tápanyagokkal. Kis glükóz koncentrációk

esetén a *AchiBAengA* duplamutáció szignifikánsan csökkentette a termelt konidiumok mennyiségét; a ChiB és EngA fehérjék hiánya ugyanakkor érdemben nem befolyásolta a tenyészetek viselkedését kedvező tápanyagellátottság mellett. Azaz, valóban van funkcionális kapcsolat a konidiogenezis és az ASD között: Az ASD tápanyagokkal segítheti a konidiofórok működését és ezen keresztül növeli a termelt konidiumok mennyiségét szénéhező tenyészetekben.

Az *A. nidulans* gombában a melanin termelést – többek között – a szénéhezés is indukálja (van Munster és munkatársai 2016). A melanin termelés és a fermentlé kitináz, illetve β -1,3-glükanáz aktivitása között szoros pozitív korrelációt találtunk (a Peaarson-féle korrelációs koefficiens értéke 0,88 volt). Sőt, a *chiB* és/vagy az *engA* gén deléciója gyakorlatilag teljesen megszüntette a melanizációt. A tápközeghez adott *Trichoderma* litikáz, amely jelentős β -glükanáz és kitináz (valamint celluláz és proteináz) aktivitással rendelkezik, indukálta az egyébként gyenge melanin termelő FGSC A4 törzs melanin termelését szénéhező körülmények között és növekvő tenyészetekben egyaránt. A tisztított EngA és ChiB enzimekkel végzett *in vitro* vizsgálataink alapján a melanin a ChiB kitináz működését gátolta, de nem volt érdemi hatással az EngA β -1,3-glükanáz aktivitására. A *Trichoderma* litikázzal kezelt tenyészetekhez adott melanin – Kuo és Alexander (1967) vizsgálataival összhangban – hatékonyan gátolta a hifák darabolódását és a pelleték szétesését, azaz az ASD-t. Mindezek alapján úgy gondoljuk, hogy a melanin termelést nem közvetlenül a szénéhezés váltja ki, hanem a szénéhezés által indukált, ASD-ban részt vevő enzimek sejtfalkárosító hatásának a következménye és célja, hogy védelmet nyújtson a sejtfalhidrolázokkal szemben. E folyamat része lehet azon

mechanizmusoknak, amelyek lehetővé teszik, hogy az ASD valóban csak az elhalt sejtek falát bontsa le, megkímélve a melanin termelésre képes, még élő sejteket.

A GgtA γ -glutamil transzpeptidáz és jelentősége a szénéhezésre adott stresszválaszban

Szénéhező *A. nidulans* (FGSC A26) tenyészetek fermentlevéből frakcionált amónium-szulfátos kicsapás és ioncsere kromatográfia segítségével részlegesen megtisztítottunk egy γ GT aktivitást mutató enzimet (GgtA). Vizsgálataink alapján a GgtA egy lúgos pH-n aktív, extracellulárisan (is) termelődő enzim, amely GSH és az oxidált glutation (GSSG) mellett Gln γ -glutamil donort is képes felhasználni és elsődlegesen nem hidroláz, hanem transzpeptidáz aktivitással rendelkezik. Az AN10444 gén (*ggtA*) deléciója teljes egészében megszüntette a sejtek és a fermentlé γ GT aktivitását, de nem befolyásolta a szénstressznek kitett tenyészetekben a GSH tartalom gyors csökkenését. Több megfigyelés is arra utal, hogy a γ GT fiziológiai funkciója kapcsolatba hozható az extracelluláris fehérjék lebontásával és az extracelluláris proteinázok képződésével:

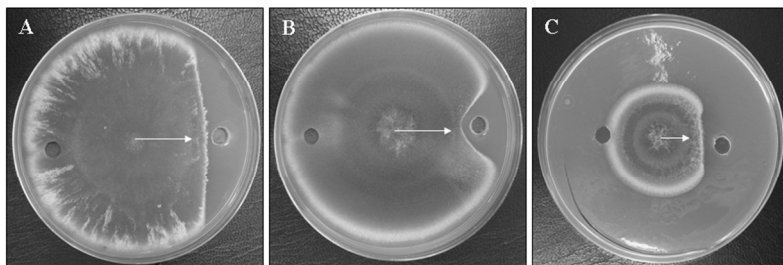
- 1) A GgtA szénstressz alatt termelődött, azaz olyan körülmények között, amikor az alternatív energiaforrások (pl. extracelluláris fehérjék) hasznosítása kritikus a gomba számára.
- 2) Képződését kazein peptonnal indukálni lehetett, de indukáló hatásának bizonyult a marha szérumalbumin (BSA), az élesztőkivonat, a Glu és a Gln is.

- 3) Az extracelluláris proteináz termelés szintén indukálódott szénstressz hatására (Szilágyi és munkatársai 2010) és a peptidek jelenléte növelte a szekretált proteinázok mennyiségét is (Szilágyi és munkatársai 2010, 2011, Spitzmüller és munkatársai 2015), ugyanakkor a proteináz termelést befolyásoló számos mutáció (pl. a FadA és GanB jelátviteli útvonalak mutációi) a γ GT aktivitásokat is megváltoztatta (Molnár és munkatársai 2004, 2006).
- 4) A kleisztotéciumok képződését a *ggtA* gén, valamint – az extracelluláris proteinázokat kódoló *-prtA* és *pepJ* gének deléciója egyaránt kedvezőtlenül befolyásolta (Spitzmüller és munkatársai 2015, Emri és munkatársai 2018).
- 5) Szénéhező körülmények között az *A. nidulans* tenyészetek redox egyensúlya felborul (Emri és munkatársai 2004a, 2004b). Vizsgálataink alapján kazein pepton adagolásával a redox egyensúlyvesztés mérsékelhető volt, de a kezelés jótékony hatása a *AggtA* törzsekben szignifikánsan kisebb mértékben érvényesült, noha a *ggtA* gén deléciója önmagában nem befolyásolta a szénéhező tenyészetek redox homeosztázisát.

Az Aspergillus pachycristatus echinocandin toleranciája

Kísérleteinkben az echinocandin termelő *A. pachycristatus* ATCC 58397 törzs („*A. nidulans* var. *roseus*”) 24 °C-on („ECB termelő körülmények”), illetve 37 °C-on („ECB nem termelő körülmények”) mutatott viselkedését, illetve az ATCC 58394 törzs és az echinocandinokat nem termelő és echinocandinokra érzékeny *A. nidulans* (FGSC A4 törzs) tulajdonságait hasonlítottuk össze.

Meglepő módon az *A. pachycristatus* ECB-re és caspofunginra nézve is érzékenynek, az *A. nidulans*nál 5-ször érzékenyebbnek bizonyult 37 °C-on a mikrodilúciós kísérletekben.



2. ábra Az ECB hatása az *A. pachycristatus* ATCC 58397 (A) és az *A. nidulans* FGSC A4 (B és C) növekedésére felületi kultúrákban

A tenyészeteket 3 napig inkubáltuk 37 °C-on nitrátos tápagaron, majd a telep szélétől 1 cm-re fúrt lyukakba metanolt (bal oldali lyukak), illetve metanolban oldott ECB-t (5 mg; jobb oldali lyukak) adtunk. A fehér nyilak a telep ECB kezelés előtti sugarát mutatják. A fotók a leoltást követő 5. napon készültek. A C ábrán szereplő tápagar már a leoltáskor is tartalmazott 25 µg/ml ECB-t.

Az ECB felületi kultúrákban (37 °C-on) is hatásosan gátolta a már kinőtt micélium növekedését mindkét fajnál (2. ábra). A gátlási zóna alakja jól mutatja a paradox effektus (Wiederhold 2009) meglétét az *A. pachycristatus* esetében: Az ECB a lyuktól távolabb (kis koncentrációban) már gátolta a gomba növekedését, de növekedés még a lyukhoz közel (nagy ECB koncentrációnál) is megfigyelhető volt, ami egyenes telepszél kialakulását eredményezte (2A ábra) szemben a várt homorútól (2B ábra). Az *A. nidulans* esetében paradox effektusra utaló növekedést csak abban az esetben tapasztaltunk, ha a gombát előkezeltük szubletális koncentrációjú ECB-vel (2C ábra). A fentiek alapján az *A. pachycristatus* nem rendelkezik veleszületett echinocandin rezisztenciával sok más *Aspergillus* fajhoz

hasonlóan (Imhof és munkatársai 2003, Antachopoulos és munkatársai 2008), ami az *A. pachycristatus* echinocandin termelése miatt meglepő (Boeck és Kastner 1981). Az echinocandin rezisztencia növelése fontos része lehet az ipari törzsfeljesztő munkának.

A β -1,3-glükánszintáz mindkét faj esetében hasonló mértékben volt gátolható ECB-vel összhangban a törzsek echinocandin érzékenységgel. Az *A. pachycristatus* esetében azonban kisebb β -1,3-glükánszintáz aktivitásokat mértünk, mint az *A. nidulans*-nál, ami magyarázhatja az echinocandin érzékenységben tapasztalt különbségeket. A sejtfal szintézisben potenciálisan résztvevő néhány gén relatív transzkripcióját megvizsgálva azt tapasztaltuk, hogy ECB termelés alatt több, potenciálisan kitin szintáz kódoló gén (*chsA*, *chsB*, *csmB* ortológok), illetve egy kitin szintáz szabályozó fehérje génje (az AN8710 ortológja) is indukálódott az ATCC 58397 törzsben. A fenti gének – a *csmB* kivételével – ECB kezelés hatására is indukálódtak ECB-t nem termelő tenyészetekben. Az *fksA* gén (feltételezett β -1,3-glükán szintáz gén) transzkripciójában nem tapasztaltunk változást, noha a specifikus β -1,3-glükán szintáz aktivitások megnöttek ECB termelő körülmények között.

Az *A. nidulans* sejtfalának kitin és glükán tartalmára a tenyésztési hőmérséklet nem volt érdemi hatással; sejtfalösszetétele hasonló volt a 37 °C-on tenyésztett *A. pachycristatus*-éhoz. Az *A. pachycristatus* sejtfalösszetételét a tenyésztési hőmérséklet ugyanakkor jelentősen befolyásolta: ECB termelő hőmérsékleten (24 °C) a sejtfal β -glükán tartalma csökkent, míg kitin tartalma növekedett a 37 °C-os tenyészetekben mért értékekhez képest. Azaz, a kitin szintézisben potenciálisan résztvevő gének transzkripció változásai jól korreláltak a sejtfalösszetétel

változásával. Az általunk gyűjtött adatok azt sugallják, hogy a sok más fajnál is megfigyelt „compensatory chitin biosynthesis” (Fortwendel és munkatársai 2010, Walker és munkatársai 2012, Ries és munkatársai 2017) lényeges eleme az *A. pachycristatus* túlélésének ECB termelő körülmények között. E mellett a lassú növekedéssel járó csökkent sejtfalszintézis igény (Boeck és Kastner 1981, Tóth és munkatársai 2011), illetve a megnövekedett β -1,3-glükán szintáz aktivitás szintén előnyös lehet. Az echinocandinokra kevésbé érzékeny β -1,3-glükán szintáz termelése azonban nem része a gomba védelmi rendszerének. E vonatkozásokban az *A. pachycristatus* viselkedése az echinocandinokat nem termelő *A. fumigatus*-éra hasonlít (Kurtz és munkatársai 1994, Bowman és munkatársai 2002, Verwer és munkatársai 2012, Altwasser és munkatársai 2015). Az *A. pachycristatus* és az *A. fumigatus* echinocandinokara adott stresszválaszainak összehasonlító vizsgálata ezért hozzásegíthet a humán patogén *Aspergillus* fajok echinocandin kezelés alatti viselkedésének alaposabb megismeréséhez is a jövőben.

A paradox effektus klinikai jelentősége a mai napig vitatott (Wiederhold 2009, Steinbach és munkatársai 2015, Loiko és Wagener 2017). A 2. ábrán bemutatott eredmények (miszerint ha az *A. nidulanst* előzetesen szubletális koncentrációjú ECB jelenlétében tenyésztjük, kiváltható a paradox effektus, az ECB-vel nem előkezelt tenyészetekben azonban nem) megerősítik azon elképzeléseket, hogy a paradox effektus hátterében az echinocandin stresszhez való sikeres adaptáció állhat (Steinbach és munkatársai 2015). Vizsgálataink ugyanakkor arra is utalnak, hogy a nem megfelelő dozírozás (az echinocandinok szubletális koncentrációban történő alkalmazása, majd a koncentráció növelése)

nemcsak a rezisztencia kialakulásának, de a paradox effektus indukálódásának nagyobb kockázata miatt is növelheti a terápiás kudarc esélyét.

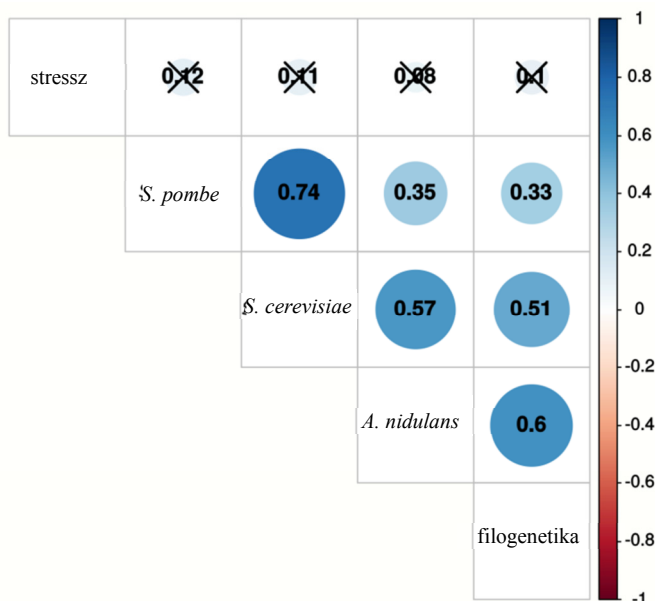
Az Aspergillus fumigatus stressz toleranciájának vizsgálata

Vizsgálataink első felében adatbázisok – 18 *Aspergillus* faj genom adatai (de Vries és munkatársai 2017; *Aspergillus* Genome Database), 17 *Aspergillus* faj stressz tolerancia adatai (Orosz és munkatársai 2018; Fungal Stress Database) és a gomba stresszgének adatai (Karányi és munkatársai 2013; Fungal Stress Response Database) – segítségével próbáltunk kapcsolatot találni a genomban jelenlévő stresszgének kópiaszáma és az adott gombafaj strssztoleranciája között. Többek között arra voltunk kíváncsiak, hogy az *A. fumigatus* stresszgén készlete eltér-e a közeli rokon, de kevésbé patogén fajokétól. Vizsgálataink második felében RNS szekvenálás segítségével azt tanulmányoztuk, hogy hogyan alkalmazkodik az *A. fumigatus* egy komplex (vaséhezéssel kombinált oxidatív stressz) stresszhelyzethez.

Stresszgének előfordulása Aspergillus fajok genomjában

A Fungal Stress Response Database adatainak a felhasználásával a stresszfehérjék három csoportját hoztuk létre: 1) A *S. cerevisiae*-ben és legalább még egy gombafajban kísérletesen is igazolt funkciójú stressz fehérjék. 2) A *S. pombe*-ben és legalább még egy gombafajban kísérletesen is igazolt funkciójú stressz fehérjék. 3) Az *A. nidulans*-ban kísérletesen is

igazolt funkciójú stressz fehérjék (függetlenül attól, hogy más gombafajban igazolt a fehérje stresszválaszban betöltött szerepe vagy sem). Meghatároztuk ezen stresszfehérjék ortológjainak számát az alábbi 18 *Aspergillus* fajban: *A. niger*, *A. luchuensis*, *A. kawachii*, *A. tubingensis*, *A. brasiliensis*, *A. aculeatus*, *A. versicolor*, *A. sydowii*, *A. nidulans*, *A. flavus*, *A. oryzae*, *A. terreus*, *A. fumigatus*, *A. fischeri*, *A. clavatus*, *A. glaucus*, *A. wentii* és *A. zonatus*. Végeredményként három táblázatot kaptunk, melyeket a továbbiakban *S. cerevisiae*, *S. pombe* és *A. nidulans* modellnek nevezek. Annak érdekében, hogy a három modell stresszfehérjei (ortológ fehérjék száma) alapján jellemezhesük az *Aspergillus* fajokat, elvégeztük a 18 faj klaszterezését, illetve sokdimenziós skálázását (MDS). A Fungal Stress Database-ben (Orosz és munkatársai 2018) szereplő stressz tolerancia adatok felhasználásával szintén elvégeztük ezen *Aspergillus* fajok klaszterezését és MDS-át. A kapott dendrogramokat egymással és a vizsgált fajok filogenetikai fájával is egybevetettük. A Mantel teszt eredményei (3 ábra) alapján a *S. cerevisiae* és az *A. nidulans* modellek jól korreláltak a filogenetikai törzsfával és egymással is. A *S. pombe* modell, bár jó korrelációt mutatott az *S. cerevisiae* modellel, csak gyengén korrelált a filogenetikai fával. A három modell közül egyik sem mutatott szignifikáns korrelációt a stressz tolerancia adatokkal.



3. ábra Mantel-féle korrelációs koefficiens értékek.

A páronkénti Mantel tesztben az alábbi távolságmátrixok lettek összehasonlítva: A vizsgált *Aspergillus* fajokra a *S. cerevisiae*, a *S. pombe* és az *A. nidulans* modellekben szereplő fehérjék ortológjainak száma alapján számolt Manhattan távolságmátrixok, (az *A. kawachii* és az *A. zonatus* – fiziológiai adatok hiányában - ki lett hagyva az elemzésből), ugyanezen fajok normalizált stressz tolerancia adataiból számolt Manhattan távolságmátrix („stressz”), és az ugyanezen *Aspergillus* fajok filogenetikai fájához tartozó kofenetikus távolságmátrix („filogenetika”). A Mantel tesztet az R programcsomag „ade4” függvényével végeztük el (Emri és munkatársai 2018b).

Megvizsgáltuk az egyes stresszfehérjéket külön-külön is. A Spearman-féle korrelációs koefficiensek értéke alapján a fehérjék túlnyomó többsége (ortológjainak száma) nem mutatott érdemi korrelációt egyik stressz tolerancia adatsorral sem. Az említésre méltó kivételek (ahol pozitív korreláció találtunk) az alábbiak voltak: Ftr1 (nagy affinitású vas permeáz;

S. cerevisiae modell) – szorbitol és H₂O₂ stressz (korrelációs koeficiens > 0,6); Fet3 (ferro ion-O₂-oxidoreduktáz; *S. cerevisiae* modell) – H₂O₂ stressz (korrelációs koeficiens > 0,67); Gpp1 (glicerín-3-foszfát foszfatáz; *S. cerevisiae* modell) – Kongó vörös stressz (korrelációs koeficiens > 0,63); Ena1 (P-típusú ATPáz Na-pumpa; *S. cerevisiae* modell) – CdCl₂ stressz (korrelációs koeficiens > 0,66); Dis2 (szerin/treonin protein foszfatáz 1; *S. pombe* modell) – Kongó vörös stressz (korrelációs koeficiens > 0,54); MpkC (feltételezett HogA-szerű MAPK; *A. nidulans* modell) – Kongó vörös és szorbitol stressz (korrelációs koeficiens > 0,53); CatB (kataláz; *A. nidulans* modell) – szorbitol, valamint a Kongó vörös stressz (korrelációs koeficiens > 0,57); NikA (feltételezett hisztidin-specifikus protein kinase; *A. nidulans* modell) – H₂O₂ stressz (korrelációs koeficiens > 0,53).

A *S. cerevisiae*, illetve az *A. nidulans* modellek és a filogenetikai törzsfá közötti Mantel korreláció (3. ábra), valamint a fent említett fehérjék ortológjainak száma és egyes stressz tolerancia adatsorok közötti pozitív Spearman korreláció alapján úgy gondoljuk, hogy a stresszgének kópiaszámában bekövetkező változások fontos részét képezik az *Aspergillus* fajok stresszhez való adaptációjának és ezen keresztül evolúciójának. Hasonló következtetésre jutottak Zhang és munkatársai (2016) is, akik a *Drechmeria coniospora* (a Nematodák többé-kevésbé obligátnak mondható endoparazitája) stresszgén készletében bekövetkezett változásokat vizsgálták, de a laboratóriumi evolúciós kísérletek eredményei is arra utalnak, hogy a kópiaszám változás fontos eleme lehet a stresszhez való adaptációnak (Gresham és munkatársai 2008). Az azonban meglepő, hogy a stresszgének kópiaszáma és a vizsgált *Aspergillus* fajok stressz toleranciája között érdemi kapcsolat csak egy-egy fehérje esetében volt,

azaz a stresszgének kópiaszámából egy-egy faj filogenetikai rokonsági kapcsolataira pontosabban lehet következtetni, mint stressz toleranciájára. Ennek háttérében feltehetőleg az áll, hogy a stressz toleranciát a stresszgének kópiaszám változásán kívül más folyamatok (pl. a stresszfehérjék aktivitásának megváltozása, a stresszgének aktivitásának, szabályozásának módosulása) is érdemben befolyásolják.

Az *A. fumigatus* és az *A. fischerii* bár filogenetikailag közel állnak egymáshoz, stressz toleranciájukban nagy eltérések tapasztalhatóak, ami magyarázhatja a két faj patogenitásában megmutatkozó eltéréseket is (Lamoth 2016). Vizsgálataink alapján azonban az eltérő stressz toleranciájuk háttérében nem a stresszgén készletük eltérő összetétele állt. Eredményeink azt az elképzelést erősítik miszerint az *Aspergillus* fajok számára egy immunkomprimált emberi szervezetben való növekedés nem szükségszerűen igényel speciális géneket. Egy „átlagos” *Aspergillus* stresszgén készlet is alkalmas lehet erre, amennyiben e fehérjék aktivitása, stabilitása és nem utolsó sorban szabályozása megfelelő.

Az Aspergillus fumigatus kombinatórikus stresszválasza

Kísérleteinkben négyféle tenyészet transzkriptomát határoztuk meg RNS szekvenálás segítségével: 1. Oxidatív stressznek kitett (3 mM H₂O₂-dal kezelt, 1 h) tenyészetek (+Fe/+H₂O₂). 2. Vaséhező tenyészetek (-Fe/-H₂O₂). 3. Oxidatív stressznek kitett (3 mM H₂O₂-dal kezelt) vaséhező tenyészetek (-Fe/+H₂O₂). 4. Kontroll tenyészetek (+Fe/-H₂O₂). A transzkriptom változásai jól korreláltak az RT-qPCR-rel mért transzkripciósi változásokkal (26 gén, a Pearson-féle korrelációs koefficiens értéke: 0,71-

0,94) és a vashiányos tenyészetek esetében a proteom változásaival is (Kurucz és munkatársai 2018b).

Géncsoport dúsulási vizsgálatok alapján vaséhezés hatására, az irodalmi adatokkal összhangban (Schrettl és munkatársai 2008, 2010, Haas 2012), indukálódtak a szideroför anyagcserében érintett gének, ami együtt járt a transláció valamint számos vas-függő folyamat (pl. FeS klaszter kötő fehérjék, hem tartalmú fehérjék, légzés, citromsav ciklus) génjeinek repressziójával. Jelentős változások következtek be a szekunder anyagcserében is: a sziderofórok bioszintéziséért felelős klaszteren kívül további 4 génklaszter indukálódott, míg 10 klaszter repressziót mutatott.

Érdekes módon a hem, illetve a FeS klaszterek bioszintézisében résztvevő gének nem dúsultak fel a represszáldott gének csoportjában vaséhezés alatt. Sőt, a szkvalén→ergoszterin bioszintézis útvonal génjeinek egy jelentős része indukálódott, beleértve a vas-függő enzimet kódoló *erg3A*, *erg3B*, *erg25A* és *erg25B* géneket is. Megfigyeléseink arra utalnak, hogy bár vaséhezés alatt általában megfigyelhető a vasigényes folyamatok gátlása (Schrettl és munkatársai 2008, 2010, Haas 2012), ez nem jelenti automatikusan az összes vastartalmú fehérje képződésének visszaszorulását, vagy az összes vas-függő folyamat teljes gátlását. Sokkal inkább arról van szó, hogy a rendelkezésre álló vasat igyekszik a sejt a túlélése szempontjából a lehető legelőnyösebben szétosztani a vasigényes folyamatok között, amibe a vas felhasználáshoz köthető sok gén repressziója mellett akár vas felhasználáshoz köthető gének indukciója is beletartozik.

A kísérleteinkben alkalmazott oxidatív stresszkezelés (3 mM H₂O₂; 1 h) a kontroll tenyészetek transzkriptomában (és proteomában is; Kurucz

és munkatársai 2018b) csak viszonylag kis stresszválaszt generált. A transzkriptomikai adatok alapján megváltozott a szekunder anyagesere, valamint a vas transzportban fontos gének represszálódtak, de nem tapasztaltunk érdemi változást többek között az antioxidáns enzimek transzkripciósi adataiban sem. A vaséhező tenyészetek számára ugyanez az oxidatív stressz azonban igen komoly kihívást jelentett: Kombinált kezelés esetén lényegesen több (közel hétszer annyi) gén indukcióját és represszióját figyeltük meg, mint az önmagában alkalmazott peroxid kezelést követően. Számos, az oxidatív és hő stresszválaszra jellemző gén indukálódott, indukálódtak a DNS repair rendszerek, a fehérjék proteoszómális lebontásáért felelős folyamatok és a makroautofágiában fontos gének is. Sőt, a DCF teszt is lényegesen nagyobb redox egyensúlyvesztést mutatott kombinált kezelés esetén, mint kedvező vasellátottságú tenyészetekben. Megfigyeléseink alapján nem meglepő, hogy a patogén mikrobák ROS-okal való támadása és egyúttal az életfolyamataikhoz szükséges vas elvonása elterjedt stratégia az állatvilágban a fertőzések leküzdésében (Nairz és munkatársai 2014, Prüfer és munkatársai 2014).

A kombinált stresszkezelés ($-Fe/+H_2O_2$ vs. $+Fe/-H_2O_2$) hatása nemcsak erősségében, de jellegében is eltért az egyszerű stresszkezelésektől és nem fogható fel a kétféle kezelésre ($+Fe/+H_2O_2$ vs. $+Fe/-H_2O_2$, illetve $-Fe/-H_2O_2$ vs. $+Fe/-H_2O_2$) adott stresszválasz kombinációjaként. A megfigyelt transzkripcionális változások túlnyomó többsége csak a kombinált kezelést követően volt detektálható.

A transzkriptom változásai alapján az alábbi folyamatok segíthették a tenyészeteket, hogy túléljék a kombinált kezelést:

1. Vas-független antioxidáns enzimeket (tioredoxin-glutaredoxin rendszer enzimei, szuperoxid dizmutázok) kódoló gének indukciója.
2. A nagy volumenű fehérjeszintézis repressziója – a sejtek vas igényének mérséklése.
3. A vas ionokat biztosító folyamatok (sziderofór anyagcsere mellett a reduktív vas asszimilációs útvonal) aktiválódása.

A fentiekén túl jellemző volt egyes vastartalmú fehérjék génjeinek indukálódása is. Bár a kombinált stresszkezelés alapvetően represszálta a vas-függő folyamatokat (pl. kataláz-peroxidáz gének, légzés, citromsav ciklus, ergoszterin szintézis, FeS klaszter fehérjék, hem-tartalmú fehérjék génjei), jelentős számban voltak olyan gének is, amelyek indukciót mutattak. Összesen 50, vas felhasználáshoz szorosan köthető indukálódott gént találtunk kombinált stressznek kitett tenyészetekben, míg vaséhezés esetén csak 19, oxidatív stresszt követően pedig alig 5 ilyen típusú gén indukálódott. E gének közül külön említést érdemel a 11 FeS klasztert tartalmazó fehérje génje, valamint a 6 FeS klaszter bioszintézisben fontos gén, hiszen a vaséhezés önmagában e két géncsoport génjei közül egyet sem indukált. Fontos megjegyezni, hogy e változások csak a transzkripció szintjén lettek megfigyelve, a proteomikai vizsgálatok egyetlen esetben sem mutattak ki indukciót (Kurucz és munkatársai 2018b). A FeS klaszter fehérjék igen érzékenyek az oxidatív stresszre; oxidatív stressz alatti folyamatos újraszintézisük fontos eleme az oxidatív stresszválasznak (Rouault és Klausner 1996, Imlay 2006). Vas hiány esetén azonban a szintézis komoly nehézségekbe ütközik (Rouault és Klausner 1996, Imlay 2006). Elképzelhető, hogy a kérdéses gének transzkripcionális aktiválása abban segít, hogy a rendelkezésre álló vas hatékonyabban tudjon e

vastartalmú fehérjékbe beépülni. Ez azonban nem jelenti szükségszerűen a fehérjék mennyiségének a növekedését, de hozzájárulhat ahhoz, hogy mennyiségük ne csökkenhessen le túlságosan. A vastartalmú fehérjék mennyiségének, illetve a vasfüggő folyamatok aktivitásának legalább egy minimális szinten történő biztosítása kulcsfontosságú lehet a vaséhezéssel kombinált oxidatív stresszválasznak és akár terápiás célpontként is szóba jöhet a jövőben.

Tézispontok

Az *A. nidulans* különböző stresszorokkal kiváltott oxidatív stresszválaszai a gének (transzkriptom) szintjén egyediek, a köztük lévő átfedés mértéke és összetétele esetleges, az összehasonlított kezelések típusától és erősségétől függ. (Emri és munkatársai 2015)

Az *A. nidulans* különböző stresszorokkal kiváltott oxidatív stresszválaszaiban a szabályozott biológiai folyamatok (stresszválasz elemek) tekintetében abban az esetben is lehetnek jelentős átfedések, ha ez a szabályozott gének szintjén nem valósul meg. (Orosz és munkatársai 2017)

Az *atfA* deléció transzkriptomra gyakorolt hatásainak nagy része megmagyarázható, ha feltételezzük, hogy az AtfA fő feladata a jelátviteli hálózat működésének módosítása oxidatív stressz alatt. (Orosz és munkatársai 2017)

Az (oxidatív) stressz az egyes szekunder metabolit génklaszterekre eltérő módon hat (az *A. nidulans* és az *A. fumigatus* gombák esetében is); a stressz típusától és erősségétől függően egyes klaszterek transzkripcióját növelheti,

vagy csökkentheti, míg más klaszterek transzkripciójára nincs hatással. (Emri és munkatársai 2015; Kurucz és munkatársai 2018b)

Az *atfA* gén inaktiválása segítségével egyes szekunder metabolit génklaszterek aktivitása (transzkripció szinten) befolyásolható az *A. nidulans* gombában. (Emri és munkatársai 2015)

Az AN0472 (*engA*) gén terméke egy szénéhezés alatt extracellulárisan termelődő β -1,3-endoglükánáz; képződéséhez aktív FluG-BrlA jelátviteli út vonal szükséges, és ezen enzim nélkülözhetetlen a szénéhező tenyészetek autolitikus sejtfaldegradációjához (ASD). (Szilágyi és munkatársai 2010a)

Szénéhezés alatt az *A. nidulans* nemcsak lebontja elhalt sejtjeinek sejtfalát, de fel is használja az így nyert tápanyagokat, ami segíti a szénéhezés alatti konidium termelést; azaz az ASD és a konidiogenezis nemcsak szabályozását tekintve, de funkcionálisan is összefüggnek egymással (Szilágyi és munkatársai 2013, Emri és munkatársai 2018a)

A szénéhező *A. nidulans* tenyészetek melanizációját a sejtfalbontó hidrolázok (az EngA β -1,3-glükánáz és a ChiB kitináz) jelenléte váltja ki; a melanin termelésnek fontos szerepe van abban, hogy autolízis alatt az élő sejtek sejtfa la ne károsodjon. (Szilágyi és munkatársai 2012, 2018)

Az AN10444 gén által kódolt GgtA felelős a szénéhező tenyészetek nagy intra- és extracelluláris γ GT aktivitásáért; a szénéhező tenyészetekben megfigyelhető jelentős GSH tartalom csökkenéshez azonban a GgtA nem szükséges. (Spitzmüller és munkatársai 2015a)

A GgtA számottevő hidroláz aktivitással nem rendelkezik, lúgos pH-n Gln és GSH (mint γ -glutamil donorok), valamint Glu, (mint γ -glutamil akceptor) jelenlétében nagy aktivitást mutat. (Spitzmüller és munkatársai 2016)

Az echinocandin termelő *Aspergillus pachycristatus* nem rendelkezik veleszületett echinocandin rezisztenciával. (Tóth és munkatársai 2012)

Az *Aspergillus pachycristatus* echinocandin termelő körülmények között is echinocandinokkal gátolható β -1,3-glükán szintáz termel. (Tóth és munkatársai 2012)

Az echinocandin kezelésre indukálódó, „kompenzatórikus kitinszintézis” fontos eleme az *Aspergillus pachycristatus* echinocandin toleranciájának. (Tóth és munkatársai 2012)

Az *Aspergillus* fajok stresszgén készletének összetétele és filogenetikai rendszere között szoros kapcsolat van. Ez alapján a stresszgének kópiaszámában bekövetkező változások fontos részét képezik e fajok stresszhez való adaptációjának és ezen keresztül evolúciójának. (Emri és munkatársai 2018b)

Az *Aspergillus* fajok stresszgén készletének összetétele és stressztoleranciája között nincs szoros kapcsolat. Ez arra utal, hogy a stressztoleranciát a stresszgének kópiaszám változásán kívül más folyamatok (pl. a stresszgének szabályozása) érdemben befolyásolják. (Emri és munkatársai 2018b)

Az *Aspergillus fumigatus* patogenitása nem magyarázható stresszgén készletének (eddig feltárt génjei) egyedi összetételével. (Emri és munkatársai 2018b)

A vashiány megnöveli az *A. fumigatus* oxidatív stresszel szemben mutatott érzékenységet. (Kurucz és munkatársai 2018b)

Az *A. fumigatus* vaséhezással kombinált oxidatív stresszre adott stresszválasza nem írható le a vaséhezésre, illetve az oxidatív stresszre adott stresszválaszok egyszerű kombinációjaként, mind erősségében, mind jellegében eltér azoktól. (Kurucz és munkatársai 2018b)

A vasfelhasználás mérséklését célzó változások mellett egyes vastartalmú fehérjéket kódoló gének, illetve vasigényes folyamatokban résztvevő gének transzkripciójának indukálása szintén jellemző eleme – és egyben potenciális gyenge pontja – a vaséhezésre és különösen a vaséhezással kombinált oxidatív stresszre adott stresszválasznak. (Kurucz és munkatársai 2018b)

Tudománymetriaai adatok

Tudományos folyóiratcikkek száma:.....	85
Az első, vagy utolsó szerzős tudományos folyóiratcikkek száma:.....	41
Független hivatkozások száma:.....	957
Összesített impakt faktor:.....	161,8
Az első, vagy utolsó szerzős közlemények összesített impakt faktora:.....	71,2
Az értekezés alapjául szolgáló első, vagy utolsó szerzős közlemények összesített impakt faktora:.....	40,775
Hirsch index.....	25

Az értekezés alapjául szolgáló tudományos közlemények listája

Emri T, Majoros L, Tóth V, Pócsi I. (2013) Echinocandins: production and applications. *Appl Microbiol Biotechnol* 97:3267-3284. IF: 3,811

Emri T, Szarvas V, Orosz E, Antal K, Park H, Han KH, Yu JH, Pócsi I. (2015) Core oxidative stress response in *Aspergillus nidulans*. *BMC Genomics*. 16:478. IF: 3,867

Emri T, Vékony V, Gila B, Nagy F, Forgács K, Pócsi I. (2018a) Autolytic hydrolases affect sexual and asexual development of *Aspergillus nidulans*. *Folia Microbiol*. 63:619-626. IF: 1,311

Emri T, Antal K, Riley R, Karányi Zs, Miskei M, Orosz E, Baker SE, Wiebenga A, de Vries RP, Pócsi I (2018b) Duplications and losses of genes encoding known elements of the stress defense system of the Aspergilli contribute to the evolution of these filamentous fungi but do not directly influence their environmental stress tolerance. *Stud Mycol*. 91:23-36. IF: 11,633

Kurucz V, Krüger T, Antal K, Dietl AM, Haas H, Pócsi I, Kniemeyer O, Emri T. (2018) Additional oxidative stress reroutes the global response of *Aspergillus fumigatus* to iron depletion. *BMC Genomics*. 19:357. IF: 3,730

Orosz E, Antal K, Gazdag Z, Szabó Zs, Han KH, Yu JH, Pócsi I, Emri T. (2017) Transcriptome-based modeling reveals that oxidative stress induces modulation of the AtfA-dependent signaling networks in *Aspergillus nidulans*. *Int J Genomics*. 2017:6923849. IF: 1,904

Spitzmüller Zs, Kwon NJ, Szilágyi M, Keserű J, Tóth V, Yu JH, Pócsi I, Emri T. (2015a) γ -Glutamyl transpeptidase (GgtA) of *Aspergillus nidulans* is not necessary for bulk degradation of glutathione. *Arch Microbiol*. 197:285-297. IF: 1,760

Spitzmüller Zs, Gonda S, Kiss-Szikszai A, Vasas G, Pócsi I, Emri T. (2016) Characterization of extracellular γ -glutamyl transpeptidase from *Aspergillus nidulans*. *Mycoscience*. 57:400-403. IF: 1,014

Szilágyi M, Kwon NJ, Dorogi C, Pócsi I, Yu JH, Emri T. (2010a) The extracellular β -1,3-endoglucanase EngA is involved in autolysis of *Aspergillus nidulans*. J Appl Microbiol. 109:1498-1508. IF: 2,365

Szilágyi M, Anton F, Forgács K, Yu JH, Pócsi I, Emri T. (2012) Antifungal activity of extracellular hydrolyses produced by autolysing *Aspergillus nidulans* cultures. J Microbiol. 50:849-854. IF: 1,276

Szilágyi M, Miskei M, Karányi Z, Lenkey B, Pócsi I, Emri T (2013) Transcriptome changes initiated by carbon starvation in *Aspergillus nidulans*. Microbiol-SGM. 159:, 176-190. IF: 2,835

Szilágyi M, Anton F, Pócsi I, Emri T. (2018) Autolytic enzymes are responsible for increased melanization of carbon stressed *Aspergillus nidulans* cultures. J Basic Microbiol. 58:440-447. IF: 1,580

Tóth V, Nagy CsT, Pócsi I, Emri T. (2012) The echinocandin B producer fungus *Aspergillus nidulans* var. *roseus* ATCC 58397 does not possess innate resistance against its lipopeptide antimycotic. Appl Microbiol Biotechnol. 95:113-122. IF: 3,689

A dolgozat témájához kapcsolódó tudományos közlemények listája

Első, vagy utolsószerzős közlemények:

Bertóti R, Vasas G, Gonda S, Nguyen NM, Szőke É, Pócsi I, Emri T (2016) Glutathione protects *Candida albicans* against horseradish volatile oil. J Basic Microbiol. 56:1071-1079.

Emri T, Bartók G, Szentirmai A. (1994) Regulation of specific activity of glucose-6-phosphate-dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase in *Penicillium chrysogenum*. FEMS Microbiol Lett. 117:67-70.

- Emri T, Pócsi I, Szentirmai A. (1997a) Glutathione metabolism and protection against oxidative stress caused by peroxides in *Penicillium chrysogenum*. *Free Radic Biol Med* 23:809-814.
- Emri T, Pócsi I, Szentirmai A. (1997b) Phenoxyacetic acid induces glutathione-dependent detoxification and depletes the glutathione pool in *Penicillium chrysogenum*. *J Basic Microbiol.* 37:181-186.
- Emri T, Pócsi I, Szentirmai A. (1999) Analysis of the oxidative stress response of *Penicillium chrysogenum* to menadione. *Free Rad Res.* 30:125-132.
- Emri T, Leiter É, Farkas E, Pócsi I. (2001) Penicillin productivity and glutathione-dependent detoxification of phenylacetic and phenoxyacetic acids in *Penicillium chrysogenum*. *J Basic Microbiol.* 41:67-73.
- Emri T, Molnár Zs, Pusztahelyi T, Pócsi I. (2004a) Physiological and morphological changes in autolysing *Aspergillus nidulans* cultures. *Folia Microbiol* 49:277-284.
- Emri T, Molnár Zs, Pusztahelyi T, Rosén S, Pócsi I. (2004b) Effect of vitamin E on the autolysis and sporulation of *Aspergillus nidulans*. *Appl Biochem Biotechnol.* 118:337-348.
- Emri T, Molnár Zs, Pusztahelyi T, Varcza Z, Pócsi I. (2005a) The FluG-BrlA pathway contributes to the initialisation of autolysis in submerged *Aspergillus nidulans* cultures. *Mycol Res.* 109:757-763.
- Emri T, Molnár Zs, Pócsi I. (2005b) The appearances of autolytic and apoptotic markers are concomitant but differently regulated in carbon-starving *Aspergillus nidulans* cultures. *FEMS Microbiol Lett.* 251:297-303.
- Emri T, Molnár Zs, Veres T, Pusztahelyi T, Dudás G, Pócsi I. (2006) Glucose-mediated repression of autolysis and conidiogenesis in *Emericella nidulans*. *Mycol Res.* 110:1172-1178.
- Emri T, Molnár Zs, Szilágyi M, Pócsi I. (2008) Regulation of autolysis in *Aspergillus nidulans*. *Appl Biochem Biotechnol.* 151:211-220.

Emri T, Szilágyi M, László K, Hamvas M, Pócsi I. (2009) PepJ is a new extracellular proteinase of *Aspergillus nidulans*. Folia Microbiol. 54:105-109.

Emri T, Zalka A, Pócsi I. (2017) Detection of transcriptionally active mycotoxin gene clusters: DNA microarray. In: Moretti A, Susca A (edd.). Mycotoxigenic Fungi: Methods and Protocols. Springer, New York, pp.:345-365.

Kurucz V, Kiss B, Szigeti ZsM, Nagy G, Orosz E, Hargitai Z, Harangi S, Wiebenga A, de Vries RP, Pócsi I, Emri T. (2018b) Physiological background of the remarkably high Cd²⁺ tolerance of the *Aspergillus fumigatus* Af293 strain. J Basic Microbiol. 58:957-967.

Pócsi I, Pusztahelyi T, Sámi L, Emri T. (2003) Autolysis of *Penicillium chrysogenum* - a holistic approach. Ind J Biotechnol. 2:293-301.

Spitzmüller Zs, Hajdu M, Pócsi I, Emri T. (2015b) Degradation of glutathione in *Aspergillus nidulans*. Acta Biol Hung. 66:242-245.

Szilágyi M, Pócsi I, Forgács K, Emri T. (2010b) MeaB dependent nutrition sensing regulates autolysis in carbon starving *Aspergillus nidulans* cultures. Ind J Microbiol. 50:104-108.

Szilágyi M, Kwon NJ, Bakti F, M-Hamvas M, Jámbrik K, Park HS, Pócsi I, Yu JH, Emri T. (2011) Extracellular proteinase formation in carbon starving *Aspergillus nidulans* cultures - physiological function and regulation. J Basic Microbiol. 51:625-634.

Tóth V, Nagy CsT, Miskei M, Pócsi I, Emri T. (2011) Polyphasic characterization of "*Aspergillus nidulans* var. *roseus*" ATCC 58397. Folia Microbiol. 56:381-388.

További közlemények:

Balázs A, Pócsi I, Hamari Zs, Leiter É, Emri T, Miskei M, Oláh J, Tóth V, Hegedus N, Prade RA, Molnár M, Pócsi I. (2010) AtfA bZIP-type transcription factor

regulates oxidative and osmotic stress responses in *Aspergillus nidulans*. Mol Genet Genomics. 283:289-303.

de Vries RP, Riley R, Ad Wiebenga A, Aguilar-Orsorio G, Amillis S, Akemi Uchima C, Anderluh G, Asadollahi Askin M, Barry K, Battaglia E, Bayram Ö, Benocci T, Braus-Stromeyer SA, Caldana C, Cánovas D, Cerqueira G, Chen F, Chen W, Choi C, Clum A, Corrêa dos Santos RA, de Lima Damásio AR, Diallinas G, Emri T, Fekete E, Flipphi M, Freyberg S, Gallo A, Gournas C, Habgood R, Haimaut M, Harispe L, Henrissat B, Hildén K S, 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 A, 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 P, Ram A FJ, Ramón A, Rauscher S, Record E, Riaño-Pachón DM, Robert V, Röhrig J, Ruller R, Salamov A, Salih N, Samson R A, 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, Velasco de Castro Oliveira J, Vesth TC, Visser J, Yu JH, Zhou M, Andersen MR, Archer D, Baker S, Benoit I, Brakhage AA, Braus GH, Fischer R, Frisvad JC, Goldman GH, Houburken J, Oakley B, Pócsi I, Scazzocchio C, Seiboth B, vanKuyk PA, Wortman JR, Dyer PS and Grigoriev IV. (2017) Comparative genomics reveals high biological diversity and specific adaptation in the industrially and medically important fungal genus *Aspergillus*. Genome Biol. 18:28.

Hegedűs N, Leiter É, Kovács B, Tomori V, Kwon NJ, Emri T, Marx F, Batta G, Csernoch L, Haas H, Yu JH, Pócsi I. (2011) The small molecular mass antifungal protein of *Penicillium chrysogenum* - a mechanism of action oriented review. J Basic Microbiol. 51:561-571.

Kovács Zs, Szarka M, Kovács S, Boczonádi I, Emri T, Abe K, Pócsi I, Pusztahelyi T. (2013) Effect of cell wall integrity stress and RlmA transcription factor on asexual development and autolysis in *Aspergillus nidulans*. Fungal Genet Biol. 54:1-14.

Molnár Zs, Mészáros E, Szilágyi Zs, Rosén S, Emri T, Pócsi I (2004) Influence of *fadA*^{G203R} and *AflbA* mutations on the morphology and physiology of submerged *Aspergillus nidulans* cultures. Appl Biochem Biotechnol. 118:349-360.

Molnár Zs, Emri T, Zavaczki E, Pusztahelyi T, Pócsi I. (2006) Effects of mutations in the GanB/RgsA G protein mediated signaling on the autolysis of *Aspergillus nidulans*. J Basic Microbiol. 46:495-503.

Orosz E, van de Wiele N, Emri T, Zhou M, Robert V, de Vries RP, Pócsi I. (2018) Fungal Stress Database (FSD) - a repository of fungal stress physiological data. Database (Oxford). 2018: bay009.

Pócsi I, Emri T, Varecza Z, Sámi L, Pusztahelyi T. (1999) Allosamidin inhibits the fragmentation and autolysis of *Penicillium chrysogenum*. In: Peter MG, Domard A, Muzzarelli RAA (edd.). Advances in chitin sciences, Vol.4. University of Potsdam, Potsdam. pp.: 558-564.

Pócsi I, Miskei M, Karányi Zs, Emri T, Ayoubi P, Pusztahelyi T, Balla Gy, Prade RA. (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. 6:182-192.

Pócsi I, Jeney V, Kertai P, Pócsi I, Emri T, Gyémánt Gy, Fésüs L, Balla J, Balla Gy. (2008) Fungal siderophores function as protective agents of LDL oxidation and are promising anti-atherosclerotic metabolites in functional food. Mol Nutr Food Res. 52:1434-1447.

Pócsi I, Leiter É, Kwon NJ, Shin KS, Kwon GS, Pusztahelyi T, Emri T, Abuknesha R, Price R, Yu JH. (2009) Asexual sporulation signaling regulates autolysis of *Aspergillus nidulans* via modulating the chitinase ChiB production. J Appl Microbiol. 107:514-523.

Pusztahelyi T, Molnár Zs, Emri T, Klement É, Miskei M, Kerékgyártó J, Balla J, Pócsi I. (2006) Comparative studies on differential expression of chitinolytic

enzymes encoded by *chiA*, *chiB*, *chiC* and *nagA* genes in *Aspergillus nidulans*. Folia Microbiol. 51:547-554.

Pusztahelyi T, Klement E, Szajli E, Klem J, Miskei M, Karányi Zs, Emri T, Kovács S, Orosz G, Kovács KL, Medzihradszky KF, Prade RA, Pócsi I. (2011) Comparison of transcriptional and translational changes caused by long-term menadione exposure in *Aspergillus nidulans*. Fungal Genet Biol. 48:92-103.

Sámi L, Emri T, Pócsi I. (2001a) Autolysis and ageing of *Penicillium chrysogenum* cultures under carbon starvation: III: glutathione metabolism and formation of reactive oxygen species. Mycol Res. 105:1246-1250.

Sámi L, Pusztahelyi T, Emri T, Varecza Z, Fekete A, Grallert Á, Karányi Zs, Kiss L, Pócsi I (2001b) Autolysis and ageing of *Penicillium chrysogenum* cultures under carbon starvation: chitinase production and antifungal effect of allosamidin. J Gen Appl Microbiol. 47:201-211.

Sámi L, Karaffa L, Emri T, Pócsi I. (2003) Autolysis and ageing of *Penicillium chrysogenum* cultures under carbon starvation: respiration and glucose oxidase production. Acta Microbiol Immunol Hung. 50:67-76.

van Munster JM, Burggraaf AM, Pócsi I, Szilágyi M, Emri T, Ram AFJ. (2016) Post-genomic approaches to dissect carbon starvation responses in Aspergilli. In: Benoit I, Andersen MR, de Vries RP (edd.). *Aspergillus* and *Penicillium* in the post-genomic era. Caister Academic Press, Norfolk, pp.: 89-112.

Yin WB, Reinke AW, Szilágyi M, Emri T, Chiang YM, Keating AE, Pócsi I, Wang CC, Keller NP. (2013) bZIP transcription factors affecting secondary metabolism, sexual development and stress responses in *Aspergillus nidulans*. Microbiology 159:77-88.

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom Prof. Dr. Pócsi Istvánnak, aki nemcsak mint tapasztalt kutató, de mint tanszékvezető és mint egykori tanárom is felbecsülhetetlen segítséget, támogatást és ösztönzést nyújtott ezen dolgozat elkészítéséhez. Köszönet illeti a tanszék korábbi tanszékvezetőit is Dr. Lenkey Bélát, Prof. Dr. Bíró Sándort és Prof. Dr. Szentirmai Attilát, hogy megfelelő környezetet biztosítottak munkám elvégzéséhez.

Köszönöm egykori és jelenlegi PhD hallgatóim munkáját, akik közül Dr. Molnár Zsoltot, Dr. Szilágyi Melindát, Dr. Tóth Viktóriát, Dr. Spitzmüller Zsoltot és Dr. Kurucz Vivient szeretném név szerint is megemlíteni, hiszen a dolgozat nagyrészt a velük végzett munka eredményeire épül. A dolgozat alapjául szolgáló vizsgálatok kivitelezésében Anton Fruzsina, Dorogi Csilla, Gila Csaba Barnabás, Hajdu Márton, Kiss Beáta, László Krisztina, Nagy Flóra, Nagy Csilla Terézia, Szarvas Vera és Vékony Viktória mint szakdolgozók működtek közre. Munkájuk értékét jelzi, hogy egy-egy, a dolgozatban is szereplő közleményben társszerzőként szerepelnek.

Köszönet illeti mindazon kutatókat, akikkel együtt dolgozhattam ezen időszak alatt: Dr. Jakab Ágnes, Dr. Leiter Éva, Dr. Miskei Márton, Dr. Orosz Erzsébet, Dr. Pusztahelyi Tünde, Szabó Zsuzsa, Dr. Szemán-Nagy Gábor, Dr. Szigeti Zsuzsa a tanszék jelenlegi, vagy egykori munkatársai; Dr. Birkó Zsuzsa, Dr. Csősz Éva, Dr. Gonda Sándor, Dr. Hamvas Márta, Dr. Harangi Sándor, Karányi Zsolt, Dr. Keserű Judit, Dr. Kiss-Szikszai Attila, Dr. Majoros László, Dr. Poliska Szilárd, Prof. Dr. Vasas Gábor, a Debreceni Egyetem munkatársai, valamint Prof. Dr. Pesti Miklós és Dr. Gazdag Zoltán (Pécsi Tudományegyetem), Prof. Dr. Hubertus Haas és kollégái (Medical University of Innsbruck), Prof. Dr. Nancy Keller és

munkatársai (University of Wisconsin–Madison), Dr. Olaf Kniemayer és kollégái (Leibniz Institute for Natural Product Research and Infection Biology – Hans Knöll Institute), Prof. Dr. Arthur F. J. Ram és munkatársai (Utrecht University), Prof. Dr. Jae-hyuk Yu és kollégái (University of Wisconsin–Madison) és nem utolsósorban Prof. Dr. Ronald P. de Vries és munkatársai (Utrecht University).

Külön szeretném megköszönni Dr. Antal Károly (Eszterházy Károly Egyetem) munkáját, segítségét, tanácsait és kritikai észrevételeit, amelyeket a vizsgálatok bioinformatikai és statisztikai részét támogatta.

Hálával tartozom Tóth Gábor Lászlóné laboráns, valamint Heteiné Burai Katalin, Tóth-Fekete Csilla és Varga-Bencsik Anikó (egymást követő) tanszéki adminisztrátorok munkájáért is.

Nem utolsósorban hálás vagyok feleségemnek, Dr. Forgács Katalinnak és lányomnak Emri Katalin Nórának, nemcsak mert türelemmel viselték az elmúlt időszak megpróbáltatásait, de a dolgozat végső formába öntését is segítették nyelvi, stilisztikai és formai észrevételeikkel.

A dolgozatban szereplő kutatások finanszírozása az alábbi pályázatok segítségével volt lehetséges: TAMOP 4.2.1/B-09/1/KONV-2010-0007, TAMOP 4.2.2/B-10/1-2010-0024, 2.2. TAMOP A-11/1/KONV-2012-0045, NKFIH K100464, NKFIH K112181, NKFIH K119494, NKFIH NN125671, SROP-4.2.2.B-15/1/KONV-2015-0001, EFOP-3.6.1-16-2016-00022.

Irodalomjegyzék

Altwasser R, Baldin C, Weber J, Guthke R, Kniemeyer O, Brakhage AA, Linde J, Valiante V. (2015) Network modeling reveals cross talk of MAP kinases during adaptation to caspofungin stress in *Aspergillus fumigatus*. PLoS One. 10:e0136932.

Antachopoulos C, Meletiadis J, Sein T, Roilides E, Walsh TJ. (2008) Comparative in vitro pharmacodynamics of caspofungin, micafungin, and anidulafungin against germinated and nongerminated *Aspergillus* conidia. Antimicrob Agents Chemother. 52:321-328.

Beekrum S, Govinden R, Padayachee T, Odhav B. (2003) Naturally occurring phenols: a detoxification strategy for fumonisin B1. Food Addit Contam. 20:490-449.

Birse CE, Clutterbuck AJ. (1990). N-acetyl-6-hydroxytryptophan oxidase, a developmentally controlled phenol oxidase from *Aspergillus nidulans*. J Gen Microbiol. 136:1725-1730.

Boeck LD, Kastner RE. (1981) Method of producing the A-30912 antibiotics. US4288549A.

Bowman JC, Hicks PS, Kurtz MB, Rosen H, Schmatz DM, Liberator PA, Douglas CM. (2002) The antifungal echinocandin caspofungin acetate kills growing cells of *Aspergillus fumigatus* in vitro. Antimicrob Agents Chemother. 46:3001-3012.

Brion C, Pflieger D, Souali-Crespo S, Friedrich A, Schacherer J. (2016) Differences in environmental stress response among yeasts is consistent with species-specific lifestyles. Mol Biol Cell. 27:1694-1705.

Chen D, Toone WM, 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. 14:214-229.

de Vries RP, Riley R, Ad Wiebenga A, Aguilar-Orsorio G, Amillis S, Akemi Uchima C, Anderluh G, Asadollahi Askin M, Barry K, Battaglia E, Bayram Ö, Benocci T, Braus-Stromeyer SA, Caldana C, Cánovas D, Cerqueira G, Chen F, Chen W, Choi C, Clum A, Corrêa dos Santos RA, de Lima Damásio AR, Diallinas G, Emri T, Fekete E, Flippin M, Freyberg S, Gallo A, Gournas C, Habgood R, Haimaut M, Harispe L, Henrissat B, Hildén K S, Hope R, Hossain A, Karabika E, Karaffa L, Karányi Z, Kraševac N, Kuo A, Kusch H, LaButti K, Legendijk EL, Lapidus A, Levasseur A, Lindquist E, Lipzen A, Logrieco A, 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 P, Ram A FJ, Ramón A, Rauscher S, Record E, Riaño-Pachón DM, Robert V, Röhrig J, Ruller R, Salamov A, Salih N, Samson R A, 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 Rossum-Uffink D, Velasco de Castro Oliveira J, Vesth TC, Visser J, Yu JH, Zhou M, Andersen MR, Archer D, Baker S, Benoit I, Brakhage AA, Braus GH, Fischer R, Frisvad JC, Goldman GH, Houben J, Oakley B, Pócsi I, Scazzocchio C, Seiboth B, vanKuyk PA, Wortman JR, Dyer PS and Grigoriev IV. (2017) Comparative genomics reveals high biological diversity and specific adaptation in the industrially and medically important fungal genus *Aspergillus*. Genome Biol. 18:28.

- Elad Y. (2000). Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. *Crop Prot.* 19:709-714.
- Emri T, Molnár Zs, Pusztahelyi T, Pócsi I. (2004a) Physiological and morphological changes in autolysing *Aspergillus nidulans* cultures. *Folia Microbiol* 49:277-284.
- Emri T, Molnár Zs, Pusztahelyi T, Rosén S, Pócsi I. (2004b) Effect of vitamin E on the autolysis and sporulation of *Aspergillus nidulans*. *Appl Biochem Biotechnol.* 118:337-348.
- Emri T, Molnár Zs, Szilágyi M, Pócsi I. (2008) Regulation of autolysis in *Aspergillus nidulans*. *Appl Biochem Biotechnol.* 151:211-220.
- Emri T, Vékony V, Gila B, Nagy F, Forgács K, Pócsi I. (2018) Autolytic hydrolases affect sexual and asexual development of *Aspergillus nidulans*. *Folia Microbiol.* 63:619-626.
- Enjalbert B, Smith DA, Cornell MJ, Alam I, Nicholls S, Brown AJ, Quinn J. (2006) Role of the Hog1 stress-activated protein kinase in the global transcriptional response to stress in the fungal pathogen *Candida albicans*. *Mol Biol Cell.* 17:1018-1032.
- Fanelli C, Ricelli A, Reverberi M, Fabbri AA. (2004) Aflatoxins and ochratoxins in cereal grains: an open challenge. *Recent Res Devel Crop Sci.* 1:295-317.
- Fortwendel JR, Juvvadi PR, Perfect BZ, Rogg LE, Perfect JR, Steinbach WJ. (2010) Transcriptional regulation of chitin synthases by calcineurin controls paradoxical growth of *Aspergillus fumigatus* in response to caspofungin. *Antimicrob Agents Chemother.* 54:1555-1563.
- Gasch AP. (2003) The environmental stress response: a common yeast response to diverse environmental stresses. In: Hohmann S, Mager WH (edd.). *Yeast stress responses. Topics in Current Genetics.* Springer, Berlin, pp.: 11-70.
- Gasch AP, Spellman PT, Kao CM, Carmel-Harel O, Eisen MB, Storz G, Botstein D, Brown PO. (2000) Genomic expression programs in the response of yeast cells to environmental changes. *Mol Biol Cell.* 11:4241-4257.
- Gresham D, Desai MM, Tucker CM, Jenq HT, Pai DA, Ward A, DeSevo CG, Botstein D, Dunham MJ. (2008) The repertoire and dynamics of evolutionary adaptations to controlled nutrient-limited environments in yeast. *PLoS Genet.* 4:e1000303.
- Haas H. (2012) Iron - A key nexus in the virulence of *Aspergillus fumigatus*. *Front Microbiol.* 3:28.
- Hagiwara D, Asano Y, Marui J, Yoshimi A, Mizuno T, Abe K. (2009) Transcriptional profiling for *Aspergillus nidulans* HogA MAPK signaling pathway in response to fludioxonil and osmotic stress. *Fungal Genet Biol.* 46:868-878.
- Hallsworth JE. (2018) Stress-free microbes lack vitality. *Fungal Biol.* 122:379-385.
- Hohmann S, Mager WH. (2003) Introduction. In: Hohmann S, Mager WH (edd.). *Yeast stress responses. Topics in Current Genetics.* Springer, Berlin, pp.: 1-9.
- Imhof A, Balajee SA, Marr KA. (2003) New methods to assess susceptibilities of *Aspergillus* isolates to caspofungin. *J Clin Microbiol.* 41:5683-5688.

- Imlay JA. (2006) Iron-sulphur clusters and the problem with oxygen. *Mol Microbiol.* 59:1073-1082.
- Inglis DO, Binkley J, Skrzypek MS, Arnaud MB, Cerqueira GC, Shah P, Wymore F, Wortman JR, Sherlock G. (2013) Comprehensive annotation of secondary metabolite biosynthetic genes and gene clusters of *Aspergillus nidulans*, *A. fumigatus*, *A. niger* and *A. oryzae*. *BMC Microbiol.* 13:91.
- Jordan R, Patel S, Hu H, Lyons-Weiler J. (2008) Efficiency analysis of competing tests for finding differentially expressed genes in lung adenocarcinoma. *Cancer Inform.* 6:389-421.
- Karányi Zs, Holb I, Hornok L, Pócsi I, Miskei M. (2013) FSRD: fungal stress response database. Database (Oxford). 2013:bat037.
- Kikuma T, Ohneda M, Arioka M, Kitamoto K. (2006) Functional analysis of the ATG8 homologue Aoatg8 and role of autophagy in differentiation and germination in *Aspergillus oryzae*. *Eukaryot Cell.* 5:1328-1336.
- Kim Y, Islam N, Moss BJ, Nandakumar MP, Marten MR. (2011) Autophagy induced by rapamycin and carbon-starvation have distinct proteome profiles in *Aspergillus nidulans*. *Biotechnol Bioeng.* 108:2705-2715.
- Kuo MJ, Alexander M. (1967) Inhibition of the lysis of fungi by melanins. *J Bacteriol.* 94:624-629.
- Kurtz MB, Douglas C, Marrinan J, Nollstadt K, Onishi J, Dreikorn S, Milligan J, Mandala S, Thompson J, Balkovec JM, Bouffard FA, Dropinski JF, Hammond ML, Zambias RA, Abruzzo G, Bartizal K, McManus OB, Garcia ML. (1994b) Increased antifungal activity of L-733,560, a water-soluble, semisynthetic pneumocandin, is due to enhanced inhibition of cell wall synthesis. *Antimicrob Agents Chemother.* 38:2750-2757.
- Lamoth F. (2016) *Aspergillus fumigatus*-related species in clinical practice. *Front Microbiol.* 7:683.
- Loiko V, Wagener J. (2017) The paradoxical effect of echinocandins in *Aspergillus fumigatus* relies on recovery of the β -1,3-glucan synthase Fks1. *Antimicrob Agents Chemother.* 61:e01690-16.
- Miskei M, Karányi Zs, Pócsi I. (2009) Annotation of stress-response proteins in the aspergilli. *Fungal Genet Biol.* 46:S105-S120.
- Molnár Zs, Mészáros E, Szilágyi Zs, Rosén S, Emri T, Pócsi I (2004) Influence of *fadA*^{G203R} and *AflbA* mutations on the morphology and physiology of submerged *Aspergillus nidulans* cultures. *Appl Biochem Biotechnol.* 118:349-360.
- Molnár Zs, Emri T, Zavaczki E, Pusztahelyi T, Pócsi I. (2006) Effects of mutations in the GanB/RgsA G protein mediated signaling on the autolysis of *Aspergillus nidulans*. *J Basic Microbiol.* 46:495-503.
- Nairz M, Haschka D, Demetz E, Weiss G. (2014) Iron at the interface of immunity and infection. *Frontiers in Pharmacology.* 5:1–10.

Nitsche BM, Burggraaf-Van Welzen AM, Lamers G, Meyer V, Ram AFJ. (2013). Autophagy promotes survival in aging submerged cultures of the filamentous fungus *Aspergillus niger*. Appl Microbiol Biotechnol. 97:8205-8218.

Orosz E, van de Wiele N, Emri T, Zhou M, Robert V, de Vries RP, Pócsi I. (2018) Fungal Stress Database (FSD) - a repository of fungal stress physiological data. Database (Oxford). 2018: bay009.

Patel S, Lyons-Weiler J. (2004) caGEDA: a web application for the integrated analysis of global gene expression patterns in cancer. Appl Bioinformatics. 3:49-62.

Pereira Silva L, Alves de Castro P, Dos Reis TF, Paziani MH, Von Zeska Kress MR, Riaño-Pachón DM, Hagiwara D, Ries LN, Brown NA, Goldman GH. (2017) Genome-wide transcriptome analysis of *Aspergillus fumigatus* exposed to osmotic stress reveals regulators of osmotic and cell wall stresses that are SakA^{HOG1} and MpkC dependent. Cell Microbiol. 19:cmi.12681.

Pinar M, Pantazopoulou A, Peñalva MA. (2013) Live-cell imaging of *Aspergillus nidulans* autophagy: RAB1 dependence, Golgi independence and ER involvement. Autophagy. 9:1024-1043.

Ponts N, Pinson-Gadais L, Verdal-Bonnin MN, Barreau C, Richard-Forget F. (2006) Accumulation of deoxynivalenol and its 15-acetylated form is significantly modulated by oxidative stress in liquid cultures of *Fusarium graminearum*. FEMS Microbiol Lett. 258:102-107.

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*. FEMS Lett. 581:443-447.

Prüfer S, Weber M, Stein P, Bosmann M, Stassen M, Kreft A, Schild H, Radsak MP. (2014) Oxidative burst and neutrophil elastase contribute to clearance of *Aspergillus fumigatus* pneumonia in mice. Immunobiology. 219:87-96.

Pusztahelyi T, Pócsi I, Szentirmai A. (1997b) Aging of *Penicillium chrysogenum* cultures under carbon starvation: II: protease and N-acetyl-β-D-hexosaminidase production. Biotechnol Appl Biochem. 25:87-93.

Reinke AW, Baek J, Ashenberg O, Keating AE. (2013) Networks of bZIP protein-protein interactions diversified over a billion years of evolution. Science. 340:730-734.

Reverberi M, Fabbri AA, Zjalic S, Ricelli A, Punelli F, Fanelli C. (2005) Antioxidant enzymes stimulation in *Aspergillus parasiticus* by *Lentinula edodes* inhibits aflatoxin production. Appl Microbiol Biotechnol. 69:207-215.

Reverberi M, Punelli F, Scarpari M, Camera E, Zjalic S, Ricelli A, Fanelli C, Fabbri AA. (2010a) Lipoperoxidation affects ochratoxin A biosynthesis in *Aspergillus ochraceus* and its interaction with wheat seeds. Appl Microbiol Biotechnol. 85:1935-1946.

Reverberi M, Ricelli A, Zjalic S, Fabbri AA, Fanelli C. (2010b) Natural functions of mycotoxins and control of their biosynthesis in fungi. Appl Microbiol Biotechnol. 87:899-911.

Richie DL, Fuller KK, Fortwendel J, Miley MD, McCarthy JW, Feldmesser M, Rhodes JC, Askew DS. (2007a) Unexpected link between metal ion deficiency and autophagy in *Aspergillus fumigatus*. Eukaryot Cell. 6:2437-2447.

Ries LNA, Rocha MC, de Castro PA, Silva-Rocha R, Silva RN, Freitas FZ, de Assis LJ, Bertolini MC, Malavazi I, Goldman GH. (2017) The *Aspergillus fumigatus* CrzA transcription factor activates chitin synthase gene expression during the caspofungin paradoxical effect. MBio. 8:e00705-17.

Roetzer A, Gregori C, Jennings AM, 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. 69:603-620.

Rouault TA, Klausner RD. (1996) Iron-sulfur clusters as biosensors of oxidants and iron. Trends Biochem Sci. 21:174-177.

Sansó M, Gogol M, Ayté J, Seidel C, Hidalgo E. (2008) Transcription factors Pcr1 and Atf1 have distinct roles in stress- and Sty1-dependent gene regulation. Eukaryot Cell. 7:826-835.

Schrettl M, Kim HS, Eisendle M, Kragl C, Nierman WC, Heinekamp T, Werner ER, Jacobsen I, Illmer P, Yi H, Brakhage AA, Haas H. (2008) SreA-mediated iron regulation in *Aspergillus fumigatus*. Mol Microbiol. 70:27-43.

Schrettl M, Beckmann N, Varga J, Heinekamp T, Jacobsen ID, Jöchl C, Moussa TA, Wang S, Gsaller F, Blatzer M, Werner ER, Niermann WC, Brakhage AA, Haas H. (2010) HapX-mediated adaption to iron starvation is crucial for virulence of *Aspergillus fumigatus*. PLoS Pathog. 6:1001124.

Selye H. (1936) Syndrome produced by diverse nocuous agents. Nature. 138:32.

Shaaban MI, Bok JW, Lauer C, Keller NP. (2010) Suppressor mutagenesis identifies a velvet complex mediator of *Aspergillus nidulans* secondary metabolism. Eukaryot Cell. 9:1816-1824.

Spitzmüller Zs, Kwon NJ, Szilágyi M, Keserű J, Tóth V, Yu JH, Pócsi I, Emri T. (2015) γ -Glutamyl transpeptidase (GgtA) of *Aspergillus nidulans* is not necessary for bulk degradation of glutathione. Arch Microbiol. 197:285-297.

Steinbach WJ, Lamothe F, Juvvadi PR. (2015) Potential microbiological effects of higher dosing of echinocandins. Clin Infect Dis. 61:S669-S677.

Szabó S, Tache Y, Somogyi A. (2012) The legacy of Hans Selye and the origins of stress research: a retrospective 75 years after his landmark brief "letter" to the editor of nature. Stress. 15:472-478.

Szilágyi M, Pócsi I, Forgács K, Emri T. (2010) MeaB dependent nutrition sensing regulates autolysis in carbon starving *Aspergillus nidulans* cultures. Ind J Microbiol. 50:104-108.

Szilágyi M, Kwon NJ, Bakhti F, M-Hamvas M, Jámbrik K, Park HS, Pócsi I, Yu JH, Emri T. (2011) Extracellular proteinase formation in carbon starving *Aspergillus nidulans* cultures - physiological function and regulation. J Basic Microbiol. 51:625-634.

Temme N, Oeser B, Massaroli M, Heller J, Simon A, Collado IG, Viaud M, Tudzynski P. (2012) BcAtf1, a global regulator, controls various differentiation processes and phytotoxin production in *Botrytis cinerea*. *Mol Plant Pathol.* 13:704-718.

Torres AM, Ramirez ML, Arroyo M, Chulze SN, Magan N. (2003) Potential use of antioxidants for control of growth and fumonisin production by *Fusarium verticillioides* and *Fusarium proliferatum* on whole maize grain. *Int J Food Microbiol.* 83:319-324.

Tóth V, Nagy CsT, Miskei M, Pócsi I, Emri T. (2011) Polyphasic characterization of "*Aspergillus nidulans* var. *roseus*" ATCC 58397. *Folia Microbiol.* 56:381-388.

van Munster JM, Burggraaf AM, Pócsi I, Szilágyi M, Emri T, Ram AFJ. (2016) Post-genomic approaches to dissect carbon starvation responses in *Aspergilli*. In: Benoit I, Andersen MR, de Vries RP (edd.). *Aspergillus* and *Penicillium* in the post-genomic era. Caister Academic Press, Norfolk, pp.: 89-112.

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*. *Mol Plant Microbe Interact.* 26:1378-1394.

Verwer PE, van Duijn ML, Tavakol M, Bakker-Woudenberg IA, van de Sande WW. (2012) Reshuffling of *Aspergillus fumigatus* cell wall components chitin and β -glucan under the influence of caspofungin or nikkomycin Z alone or in combination. *Antimicrob Agents Chemother.* 56:1595-1598.

Vo TV, Das J, Meyer MJ, Cordero NA, Akturk N, Wei X, Fair BJ, Degatano AG, Fragoza R, Liu LG, Matsuyama A, Trickey M, Horibata S, Grimson A, Yamano H, Yoshida M, Roth FP, Pleiss JA, Xia Y, Yu H. (2016) A Proteome-wide fission yeast interactome reveals network evolution principles from yeasts to human. *Cell.* 164:310-323.

Walker LA, Gow NA, Munro CA. (2012) Elevated chitin content reduces the susceptibility of *Candida* species to caspofungin. *Antimicrob Agents Chemother.* 57:146-154.

Wiederhold NP. (2009) Paradoxical echinocandin activity: a limited *in vitro* phenomenon? *Med Mycol.* 47:S369-S375.

Yin WB, Reinke AW, Szilágyi M, Emri T, Chiang YM, Keating AE, Pócsi I, Wang CC, Keller NP. (2013) bZIP transcription factors affecting secondary metabolism, sexual development and stress responses in *Aspergillus nidulans*. *Microbiology* 159:77-88.

Zhang L, Zhou Z, Guo Q, Fokkens L, Miskei M, Pócsi I, Zhang W, Chen M, Wang L, Sun Y, Donzelli BG, Gibson DM, Nelson DR, Luo JG, Rep M, Liu H, Yang S, Wang J, Krasnoff SB, Xu Y, Molnár I, Lin M. (2016) Insights into Adaptations to a near-obligate nematode endoparasitic lifestyle from the finished genome of *Drechmeria coniospora*. *Sci Rep.* 6:23122.