

Válasz Dr. Salgó András professzor úr bírálataira

Hálás vagyok Salgó András professzor úrnak, amiért elvállalta értekezésem bírálatát, és köszönöm támogató véleményét. Kritikai megjegyzéseire illetve kérdéseire az alábbiakban válaszolok.

1) *Kicsit hosszúnak találtam a lac-operon ismertetését.*

Válasz:

Valóban sokat időztem ennél a fejezetnél, aminek két fő oka volt: (1) a lac-operon modell hozzájárulását a biológia fejlődéséhez nehéz túlbecsülni; (2) dolgozatomban végig eukarióta fajokkal dolgoztam, így az eredmények értelmezésénél a lac-operont már nem tárgyaltam.

2) *A 13. oldalon idézett Boze és mtsai citátum helyesen 1987, nem 1992, valamint a 18. oldalon idézett Tarrío és mtsai (2006) publikáció hiányzik az irodalom jegyzékből.*

Válasz:

Jogos észrevételek, elnézést kérek a figyelmetlenségekért. A hiányzó hivatkozás: *Tarrío és mtsai: Reoxidation of cytosolic NADPH in Kluyveromyces lactis. FEMS Yeast Res. 6: 371-380; 2006.*

3) *... a dolgozat nem tartalmaz önálló Anyagok és módszerek fejezetet. A jelölt ezen fejezet hiányára vonatkozó magyarázatát el tudom fogadni, de ez egyben felveti a publikációs háttér bemutatásának fontosságát.*

Válasz:

Továbbra is fenntartom, hogy az összes – túlnyomó részben rutin jellegű – módszer részletes bemutatása szükségtelen lett volna, mivel a dolgozat alapjául szolgáló közleményekben ezek hiánytalanul elérhetők. Összesen 2 olyan eljárást alkalmaztunk a bemutatott kutatások során, melyeken az eredeti változathoz képest érdemi módosításokat tettünk; ezeket a 7.1. alfejezet (Anyagok és módszerek) mutatja be. Néhány más módszernél lábjegyzetek révén adtam meg vonatkozó speciális adatokat. Hibát érzésem szerint akkor követtem el, amikor nem rendeltem hozzá egyértelműen és szisztematikusan a dolgozat alapjául szolgáló közleményeket a saját, bemutatott eredményekhez, megnehezítve a metodikák megkeresését. A továbbiakban ezt a hiányt megpróbálom pótolni.

4) *Nézetem szerint az eredményeken nyugvó tézispontok, mint új tudományos eredmények akkor nyernek igazolást, ha azok a Szerző saját publikációi révén alátámasztottak. Ezért javaslatot tennék arra, hogy az eredmények diszkussziójában illetve a 22 tézispontban kerüljön bemutatásra (vagy legalább jelzésre) az, hogy az egyes eredmény (tézis) pontokhoz a Szerző 22+11 közleménye közül melyik(ek) nyújt(anak) releváns adathátteret. Ezzel a módszerrel az olvashatóság, követhetőség, érthetőség és eredményazonosítás nagyban javítható.*

Válasz:

Egyetértek Professzor Úrral, és elfogadom fenti javaslatát. Az alábbiakban minden tézispont esetén megadom azokat a saját közlemény(ek)e)t, amelyek alátámasztják a szakmai állításokat.

1. tézispont: A β -galaktozidáz és laktóz permeáz génpár azonosítása és a génklaszter további tagjainak (15 ilyen került meghatározásra) azonosítása szép eredmény, aminek igazolására bemutatott 2. és 3. ábra forrásának megjelölésével (saját cikk) könnyű lenne beláthatóvá tenni az eredményt.

Válasz:

Mindkét ábra a 16. számú saját közlemény (Fekete és mtsai: *Identification of a permease gene involved in lactose utilisation in Aspergillus nidulans. Fungal Genetics and Biology*, 49: 415–425; 2012) részét képezi (Figure 2, Figure 5). A tézispont épít a 6. számú saját közleményre (Fekete és mtsai: *Regulation of formation of the intracellular β -galactosidase activity of Aspergillus nidulans. Archives of Microbiology*, 179: 7-14; 2002) is.

2. tézispont: A *bgaD/lacpA* génpár kifejeződését „bizonyító” eredmények a 4. ábra segítségével követhetők és a levont következtetések helytállóak. A tézis utolsó mondata – ami a D-glükóz három szintű hatására vonatkozik – azonban részletes(ebb) magyarázatra szorul ill. saját hivatkozást igényelne.

Válasz:

A szóban forgó mondatot – „a D-glükóz hatása az *A. nidulans* laktóz anyagcseréjére tehát legalább 3 szinten jelentkezik, és ezek mindegyike CreA-függő folyamat: (a) a konstitutív *bgaD/lacpA* transzkripció gátlása; (b) a génpár indukálhatóságának részleges gátlása; (c) az indukált szintek gátlása illetve lecsökkentése” – a tézispont állításait összefoglalandó írtam, a korábbi mondatokhoz képest nem tartalmaz új tudományos megállapítást. A „szint” kifejezés használata azonban valóban nem volt szerencsés, mivel ez a három hatás közötti hierarchikus kapcsolatra is utalhat, amit nem vizsgáltam. Helyesebb a „...legalább 3 ponton jelentkezik...” megfogalmazás. Részletesebben minderről a fent említett Fekete és mtsai (2012) közlemény Diskussziójának második bekezdésében, és a Fekete és mtsai (2002) cikkekben olvashatunk (16. és 6. számú saját közlemények). A 16. számú saját közleményhez tartozó Supplementary Material (<http://dx.doi.org/10.1016/j.fgb.2012.03.001>.) szintén tartalmaz releváns adatokat.

3. tézispont: A harmadik tézis üzenete, hogy „a *bgaD* géntermék nem az egyetlen bGal aktivitású enzim”. A tézispont második felében tett állítások a bemutatott eredmények alapján nehezen követhetők. A tézispont állításait saját publikációs hivatkozással kellene alátámasztani.

Válasz:

A tézispont főleg a 16. számú, kisebb részben a 6. számú saját közleményre épül, és azt az ellentmondást próbálja feloldani, hogy egyfelől a *bgaD* géntermék az egyetlen enzim *A. nidulans*-ban, amely az X-gal¹ hasítani képes (ha kiütjük a gént, az X-gal hasító képesség megszűnik), másfelől laktózon a *bgaD* hiányos törzs jól nő, vagyis a hiánymutáns rendelkezik laktóz hidrolizáló enzimmal, melyeket hagyományosan β -galaktozidázoknak nevezünk. A

¹ az X-Gal (5-bromo-4-kloro-3-indolil- β -D-galakto-piranozid) egy laktóz analóg, a β -galaktozidáz mesterséges szubsztátuma.

gombának tehát van olyan hidroláza, melyet még nem azonosítottak β -galaktozidázként, de katalitikus tulajdonságai annak megfelelőek (β -1,4 kötés hidrolízise).

4., A negyedik tézispont a *lacpA* géntermék kísérletesen igazolt tulajdonságait összegzi és igazolja a laktóz permeáz enzim jelleget. Az értékes eredmények a publikációs háttérre való hivatkozással meggyőzőek lehetnek. Kérdésként merül fel ugyanakkor, hogy mit jelent az állítás: „A fenotípus nem abszolút” ill. mit értsünk az alatt, hogy egy eredmény „sugall” valamit? Jelen esetben „az ismeretlen laktóz permeáz a tejcukor iránt a *lacpA*-hoz képest kisebb affinitással bír”. Ez utóbbi feltételezés?

Válasz:

A tézispont a 16. számú saját közleményre épül.

„fenotípus nem abszolút”: génkiütést követően a funkció (pl. enzimaktivitás) nem tűnik el teljesen, csak lecsökken.

„sugall”: A szubsztrátum koncentrációjának csökkenésével a LacpA relatív hozzájárulása a felvételhez fokozódott. Ez közvetett bizonyíték – vagyis több mint feltételezés – arra nézve, hogy az akkor még ismeretlen laktóz permeáz komponens a tejcukor iránt a LacpA-hoz képest kisebb affinitással bír. Valóban félreérthető a nem-tudományos megfogalmazás.

5., Elfogadom az 5. és 6. tézispontok állításait, hogy (5.) az *A. nidulans* laktóz felvétele kétkomponensű (*lacpA* és *lacpB* alkotja), ill. hogy a *lacpB* egy funkcionális cellobióz permeáz enzimet kódol, ugyanakkor ezek publikációs alátámasztását fontosnak tartanám.

Válasz:

A tézispontok a 21. számú saját közleményre épülnek (Fekete és mtsai: *Characterization of a second physiologically relevant lactose permease gene (lacpB) in Aspergillus nidulans*. *Microbiology-SGM*, 162: 837-847; 2016).

6., A 4.1.2 fejezet és a 7. és 8. tézispontok kapcsán igazoltnak látom (7), hogy a galE (galaktokináz) mutánsok csak ammónium ion (mint N forrás) jelenlétében működnek, ugyanakkor kérdezem, hogy melyek azok a „biokémiai és genetikai bizonyítékok, amelyek az alternatív, oxido-reduktív D-galaktóz lebontás útvonalat igazolják? Itt jegyzem meg azt is, hogy ebben a pontban (63. oldal az értekezésben) és később a 17. és 18. tézisekben is hivatkozás történik Seiboth és mtsai (2004)-es cikkére, de ez a cikk nem szerepel az értekezés irodalomjegyzékében.

Válasz:

Genetikai bizonyítéknak a D-galaktóz anyagcserében mutáns *A. nidulans* törzsek növekedési tesztjeit tekintetem, mivel ezek révén tudtuk igazolni az egyes lókuszek részvételét az oxido-reduktív lebontási útvonalban. Biokémiai bizonyítékoknak a lókuszekhez tartozó (részben csak feltételezett) enzimaktivitások és az általuk keletkező illetve továbbalakuló metabolitok kinetikai vizsgálatának eredményeit neveztük. Az eredmények egyébként a 9. és a 11. számú saját közleményekre épülnek.

Seiboth és mtsai (2004): a 28. lábjegyzetben (62. oldal) megemlítettem, hogy az aláhúzással jelölt hivatkozások az értekezést megalapozó saját közlemények közé tartoznak, így nem lelhetők fel a hivatkozási listában (nem lett volna szerencsés két listában is feltüntetni őket). Az említett Seiboth és mtsai (2004) cikk a 11. számú saját közlemény.

7., A 8. tézispont azon állításának igazolására, hogy a *bgaD/lacpA* génpár élettani induktora D-galakózon maga a metabolizálatlan cukor ill. nem kellene lebontási intermedierek a *bgaD/lacpA* gének indukciójához, hiányolok kvantitatív eredményeket vagy saját publikációt.

Válasz:

A tézispont a 19. számú saját közleményre épül (Orosz és mtsai: *Metabolism of D-galactose is dispensable for the induction of the beta-galactosidase- (bgaD) and lactose permease (lacpA) genes in Aspergillus nidulans. FEMS Microbiology Letters, 359: 19–25; 2014*).

8., A 9. tézispontban a *T. reesei* és az *A. niger* galaktóz hasznosításának különbségei kerültek bemutatásra. A *bgaI* indukciója a *T. reesei*-ben igazoltnak látszik, az *A. niger*-re vonatkozó megállapítás azonban sokkal kisebb gyakorlati jelentőségű.

Válasz:

A 9. tézispont valójában csak a *Trichoderma reesei*-re vonatkozik (11. számú és 13. számú saját közlemény), *Aspergillus niger*-ben nem vizsgáltuk az oxido-reduktív galaktóz lebontási utat. A tényleges tézispontot és az ezt követő, az *A. niger* D-galaktóz anyagcseréjéhez tartozó általános magyarázó részt a tézisfüzetben valóban félreérthetően szerkesztettem össze, de – ahogy az értekezésben is látható – ez utóbbi nem része a tézispontnak.

9., A 10. pontban összefoglalt ioncserés HPLC módszer fejlesztés galaktokináz enzimaktivitás meghatározását célozta. A módszerfejlesztés eredményeképp jelzett „5%-os hiba” pontosabb, az analitikai teljesítmény jellemzők szélesebb körű megadását érdemelte volna, s a kalibrációs viszonyokra vonatkozóan sincs adat a dolgozatban.

Válasz:

Szakmailag jogos a felvetés, de egy nagydoktori értekezés tézisei közé csak a szakterület által elfogadott módon publikált eredmények kerülhetnek be. Módszerünket egy mikrobiológus lapban (*Archives of Microbiology*) megjelent cikk (6. számú saját közlemény) Anyagok és Módszerek fejezetének egyik bekezdéseként publikáltuk le, teljesítményjellemzők megadása nélkül, egy analitikai kémikus szemével nézve talán kissé pongyola módon. Utólag én is úgy vélem, szerencsésebb lett volna egy rövid, precíz analitikai közleményt írni a módszerről.

10., A 4.1.2 fejezetben és a 11. tézis pontban élettani vizsgálatok segítségével igazolt, hogy az *A. niger* D-galaktóz felvétele növekedési ciklus függő (konidium nem, micélium igen) és konidiumban nincs, micéliumban pedig kifejezett a Leloir útvonal enzimek génjeinek expressziója. Kapcsolható ezen állításhoz saját publikációs eredmény?

Válasz:

Igen; a tézispont a 15. számú saját közlemény (Fekete és mtsai: *D-galactose uptake is non-functional in the conidiospores of Aspergillus niger. FEMS Microbiology Letters, 329: 198–203.; 2012*) eredményeire épült.

11., A 4.1.5. fejezet eredményei a 12–14 tézispontokban kerültek röviden megfogalmazásra. Elfogadom a Szerző közvetett bizonyítékát (12) arra vonatkozóan, hogy a *P. chrysogenum* kettős laktóz asszimilációs mechanizmussal rendelkezik és kérem az eredményre vonatkozó saját publikáció megadását.

Válasz:

A tézispont a 18. számú saját közlemény (*Jónás és mtsai: Extra- and intracellular lactose catabolism in Penicillium chrysogenum: phylogenetic and expression analysis of the putative permease and hydrolase genes. The Journal of Antibiotics, 67: 489–497; 2014*) eredményeire épült.

12., A 13. tézispont állítását jelen formában nem látom igazoltnak/megalapozottnak. Ugyanez vonatkozik a 14. pontra is. Állítások kerülnek megfogalmazásra, de ezek igazolására a bemutatott eredmények és magyarázatok korlátozottak, hiányzik a háttér publikációs alátámasztása.

Válasz:

A 13. tézispont: „A szisztematikus törzsfeljesztés eredményeként drámaian megemelkedett penicillin kihozatal részben olyan mutációk következménye, melyek befolyásolják az elsődleges anyagcserét irányító általános szabályozási utakat. A gombatenyészetek kinetikai paraméterei azonban azt bizonyították, hogy az AS-P-78 törzs NRRL 1951-hez képest megnövekedett penicillin-termelő potenciálja nem jár együtt a laktóz asszimilációs ráta változásával. Ezek alapján a *P. chrysogenum* laktóz metabolizmusa nincs összefüggésben a gomba penicillin-termelő potenciáljával”.

Annak idején a 13. tézispont alapjául szolgáló, 18. számú saját közlemény (*Jónás és mtsai: The Journal of Antibiotics, 67: 489–497; 2014*) bírálójának is az volt a legfőbb kifogása, hogy megnövekedett penicillin kihozatalról írunk, noha ezt a paramétert nem is mértük. Válaszom akkor is és most is a következő: kutatásunk célja a *P. chrysogenum* laktóz asszimilációjának vizsgálata volt, és ehhez laktózt egyedüli szénforrásként tartalmazó, definiált táptalajt kellett használnunk. A termelői fermentáció viszont komplex táptalajon megy végbe, ahol más szerves vegyületek – sztöchiometrikus mennyiségű oldallánc prekursor, kukoricaekvár és gyakran növényi olajok – is jelen vannak, melyek befolyásolnák a laktóz asszimilációt. Úgy gondolom, elvi szinten a megközelítésünk helyes volt.

A munkánk során használt két *P. chrysogenum* törzs egyike vad típus, a másik (AS-P-78) ipari törzs, melyet az Antibioticos S.A spanyol gyógyszer cég adott át Prof. Juan F. Martín laborjának kutatási célokra, és mi tőlük kértük el tovább-nemadási szerződés aláírása mellett. Sajnos mi sosem teszteltük a törzs penicillintermelő képességét, elfogadtuk, hogy „nagy”. Ezt utólag hibának tartom, bár spanyol kollégáink rangos nemzetközi lapokban megjelent adatait (pl. *Gutierrez et al.: Transcription of the pcbAB, pcbC and penDE genes of Penicillium chrysogenum AS-P-78 is repressed by glucose and the repression is not reversed by alkaline pHs. Microbiology 145: 317-324; 1999*) nem volt okunk kétségbe vonni. Közleményünkben ezért a “penicillin producing potential” kifejezést használtuk a “penicillin production level” helyett, és ezt így cikkünk szerkesztője végül elfogadta. A szakirodalomban egyébként az AS-P-78 törzset aktuális termelési adatok nélkül is „high penicillin producer”-nek minősítik (pl. *Fierro et al. Mol. Gen. Genet. 241: 573-578; 1993*).

14. tézispont: Az eddig vizsgált Ascomycota fajokban a galaktokinázt és a galaktóz-1-P-uridilil transferázt kódoló gének – függetlenül a D-galaktóz anyagcseréjétől – minden szénforráson kifejeződnek. *P. chrysogenum*-ban ezzel szemben a fenti két enzimet (feltételezhetően) kódoló gének konstitutív alapexpresszió nélküliek, de szelektíven

indukálhatók D-galaktózzal és laktózzal. A jelenség a D-galaktóz anyagcsere eddig ismeretlen szabályozási mechanizmusai felé mutat.

A megfigyelést, vagyis a két (feltételezett) gén konstitutív alapexpressziójának hiányát a 22. számú saját közlemény mutatja be részletesen (Jónás és mtsai: *D-Galactose catabolism in Penicillium chrysogenum: expression analysis of the structural genes of the Leloir pathway. Acta Biologica Hungarica, 67: 318-332; 2016*). A Discussion fejezet utolsó előtti bekezdésében tárgyaljuk meg, miért új ez a megfigyelés. A cikk (és a tézispont) hiányossága, hogy nem manipuláltuk a géneket, csupán *in silico* azonosítottuk őket. Amint azt az értekezés 80. oldalának lábjegyzetében is leírtam, *P. chrysogenum* esetében a specifikus molekuláris biológiai eszközök elérhetősége számunkra korlátozott volt. Sok vonatkozó géntechnológiai eljárás szabadalommal védett, mi pedig sajnos nem tudtunk szakmai együttműködésre lépni a jogtulajdonos termelőkkel és a velük szinte szimbiózisban élő akadémiai laborokkal. Részben emiatt laborunk befejezte a *P. chrysogenum* kutatását, és ma már szinte kizárólag *Aspergillus* fajokkal dolgozunk.

13., *A metabolikus aktivitás és fajlagos növekedési sebesség mérésére (becslésére) kidolgozott módszert (15. tézis), ami az akridin narancsos kezelés és fluoreszcens optikai mikroszkópos mérésen alapul, nagyon ötletes in situ módszernek tartom. A módszer használhatóságának megítélésében segített volna néhány analitikai teljesítmény jellemző (relatív hiba, robusztusság, ismételhetőség) megadása.*

Válasz:

A módszert részletesen a 2. számú saját közlemény mutatja be (Sándor és mtsai: *Assessment of the metabolic activity of Acremonium chrysogenum using Acridine Orange. Biotechnology Letters, 22: 693-697; 2000*), bár robusztusságot ott sem vizsgáltunk. Egy ipari együttműködés kapcsán viszont érdekes, ide vonatkozó információkat szereztünk; lehetőség esetén a védésen, szóban szívesen beszámolok róluk.

14., *A 4.2.2. és 4.2.3. fejezetek eredményei a 16. tézis pontban kerülnek összefoglalásra. Sommásan, az új tudományos megállapítás szerint, az alacsony fajlagos növekedési sebesség alkalmazásával a karbon katabolit represszió kikerülhető ill. a szénforrások által kialakított metabolikus fluxus szabályozza elsődlegesen a karbon katabolit repressziót. Kérdésem ezzel kapcsolatban, hogy mennyire tekinthetők új felismerésnek a fenti, fontos gyakorlati jelentőségű állítások?*

Válasz:

A nyilvános szakirodalom alapján megfigyelésünk új volt (10. számú saját közlemény; Ilyés és mtsai: *CreA-mediated carbon catabolite repression of β -galactosidase formation in Aspergillus nidulans is growth rate dependent. FEMS Microbiology Letters, 235: 147-151; 2004*, majd 12. számú saját közlemény; Karaffa és mtsai: *D-galactose induces cellulase gene expression in Hypocrea jecorina at low growth rates. Microbiology-SGM, 152: 1507-1514; 2006*). A fermentációs iparban dolgozó kollégák azonban sokszor tapasztalati úton ismernek olyan összefüggéseket, melyekről nincs nyilvános irodalmi adat. Személyes megjegyzés: régi mentorom, Szentirmai Attila professzor úr sok évtizedes gyógyszeripari tapasztalatai alapján már egyetemista koromban tényként beszélt a tézispontban szereplő állításokról.

15., A 4.3.1. fejezet eredményei kísérletet tesznek a laktóz különleges szerepének ill. potenciáljának igazolására. A 18. tézispont demonstrálja (vagy bizonyítja?), hogy a mutarotáz aktivitás specifikus a laktózra, de a pont végső konklúziója nincs világosan megfogalmazva és a potenciális konklúzió gyakorlati „kimenetét” nem érdekelem világosan.

Válasz:

Az eredmények gyakorlati konklúziója az lenne, hogy az enzimes mutarotáció hiánya fokozza a *Trichoderma reesei* celluláz kihozatalát laktózon, vagyis olyan izolátumokat/törzseket kell keresni, melyekből ez az aktivitás eleve hiányzik. Ahogy a 18. tézispont szól: „Eredményeink a mutarotációt és a mutarotáz enzimeket illetve géneket potenciális célpontként jelölik ki a *T. reesei* törzsfeljesztő programok számára”. Nekünk is csalódás volt, hogy noha az eredmények az amerikai tudományos akadémia hivatalos folyóiratában, a PNAS USA-ben, vagyis az egyik leggyakrabban hivatkozott lapban kerültek közlésre (14. számú saját közlemény), a celluláz enzimeket előállító vállalatok részéről semmiféle visszajelzés nem érkezett hozzánk.

16., Ugyanezen fejezethez tartozó 19. tézis a *T. reesei* túltermelő és galaktóz bontásban sérült mutánsaiban azonosít potenciális induktorokat és talált egy olyan 2 hexózból felépülő β -(1-1) induktort, ami csak laktóz szénforráson termelődik. Ezen elméleti szempontból érdekes felismerés (saját publikáció?) az induktorok szerkezetének további vizsgálatát igényli.

Válasz:

A 19. tézispont a 17. számú saját közleményre épül (Karaffa és mtsai: *The intracellular galactoglycome in Trichoderma reesei during growth on lactose. Applied Microbiology and Biotechnology*, 97: 5447-5456; 2013). A folytatást illetően egyetértek Professzor úrral.

17., A 4.3.2. fejezetben az *Acremonium chrysogenum* CPC termelése és morfológiája közötti összefüggést elemzi a Szerző kemosztát tenyészet vizsgálatával (20. tézis). Az eredmények jól demonstrálják, hogy a fajlagos növekedési sebesség valójában nem befolyásolja a termékképzést. Kérdésem ezzel kapcsolatban: Milyen elméleti termelési stratégia javasolható a fentiek alapján a CPC maximalizálása érdekében?

Válasz:

A tézispont a 4. számú saját közleményre épül (Sándor és mtsai: *Analysis of the relationship between growth, cephalosporin C production and fragmentation in Acremonium chrysogenum. Canadian Journal of Microbiology*, 47: 801-806; 2001). Az eredményekből következő „elméleti” válasz az, hogy gyorsan hasznosuló szénforrásokon, jól növekvő *A. chrysogenum* tenyészetrel is magas CPC hozamot lehet elérni. Ráadagolásos (fed-batch) fermentációt javasolnék, a szén/nitrogén arány állandó értéken tartása mellett. A gyakorlat azonban ennél bonyolultabb: a termelő vállalatok olyan – nyilvánosan nem elérhető – mutáns törzsekkel dolgoznak, melyek genetikai háttere speciális fermentációs stratégiákat igényelhet. A kihozatal mértéke önmagában is meghatározhatja az alkalmazott technológiát: egy saját száraztömegének többszörösét előállítani képes tenyészet és egy alacsony termelőképességű törzs anyagcseréje eltér egymástól.

18., Az itakonsav termelés optimalizálására vonatkozó 4.3.3. fejezet (21. tézis) eredmények egy különleges fermentációs feltétel rendszer biztosítását igazolták. A nagy hozam elérése érdekében a min. 120 g/l glükóz és egy extrém alacsony (<5 μ g/l) Mn koncentrációt kell

alkalmazni. Vagyis ezzel az *A. terreus* is potenciális ipari alkalmazásban hasznosítható. Itt is javaslom a saját publikációs háttér megadását.

Válasz:

A 21. tézis a 20. számú saját közleményre épül (Karaffa és mtsai: *A deficiency of manganese ions in the presence of high sugar concentrations is the critical parameter for achieving high yields of itaconic acid by Aspergillus terreus. Applied Microbiology and Biotechnology, 99: 7937 – 7944; 2015*). Az *A. terreus* tényleges ipari törzs (az itakonsav mellett egyes törzseit a koleszterinszint csökkentő lovasztatin gyártására használják), bár Hollandiában a genomjában azonosított, feltételezett mikotoxin-génklaszterek miatt Biosafety-2 besorolást kapott.

Végezetül, szeretném még egyszer megköszönni Salgó András Professzor úr lelkiismeretes, alapos munkáját.



Dr. Karaffa Levente

Debrecen, 2017. augusztus 24.