SZENT ISTVÁN EGYETEM

A szárazság-specifikus *DS2* gén funkciójának és szabályozásának vizsgálata *Solanaceae* fajokban

Doktori értekezés tézisei

Dóczi Róbert

Gödöllő
2003

A doktori iskola: **Növénytudományi Doktori Iskola**

Tudományága:	Növénytermesztési és kertészeti tudományok
Vezetője:	Dr. Virányi Ferenc egyetemi tanár, az MTA doktora Szent István Egyetem Növényvédelemtani Tanszék
Titkára	Dr. Gyulai Gábor egyetemi docens, a biológiai tudomány kandidátusa SzIE, Genetika és Növénynemesítés Tanszék Gödöllő
Program:	Növénynemesítés Genetikai és Biotechnológiai Módszerekkel
Programvezető:	Dr. Heszky László egyetemi tanár, akadémikus Szent István Egyetem Genetikai és Növénynemesítési Tanszék
Témavezető:	Dr. Bánfalvi Zsófia tudományos főmunkatárs biológiai tudományok kandidátusa Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont

--- ---

Az iskolavezető jóváhagyása A programvezető jóváhagyása

A témavezető jóváhagyása

ELŐZMÉNYEK, KITŰZÖTT CÉLOK

Globális méretekben a mezőgazdasági termelés egyik legfontosabb korlátozó tényezője a vízhiány. Becslések szerint a világ növénytermesztését érő aszálykár mértéke meghaladja az évi tízmilliárd dollárt. Közismert, hogy aszálykárok a magyar mezőgazdaságot is gyakran érik. Eközben azonban ismereteink a szárazságtűrés biológiájáról rohamosan bővülnek.

A növényekben az evolúció során kialakult számos élettani és biokémiai védekező mechanizmus működését a génexpressziós mintázat jelentős átalakulása biztosítja. Az utóbbi 10-15 év során különböző növényfajokból jó néhány, a szárazság hatására indukálódó gént írtak le. E gének termékei alapvetően a következő feladatokat látják el: [1] enzimfunkcióval nem rendelkező fehérjék és kis molekulasúlyú vegyületek, amelyek egyaránt biztosíthatják a membránok és egyéb makromolekulák stabilitását és a vízvisszatartó képesség fokozását (LEA, chaperone, proteáz gátló fehérjék, ozmolitok); [2] a felesleges ionok megkötése (LEA); [3] a vízszállítás hatékonyságának javítása (aquaporinok); [4] a feleslegessé váló, vagy súlyon károsodott fehérjék eltávolítása (ubiquitinek, proteázok).

A sokféle környezeti hatás által kiváltott adaptációs folyamatokat a génexpressziós mintázat „átprogramozása” biztosítja. Ezt a folyamatot számos jelátviteli mechanizmus irányítja. A stressz- és hormon-indukálható gének vizsgálata során azonban kiderült, hogy különböző környezeti stimulusok gyakran ugyanazokat a géneket indukálják. A jelátviteli folyamatok elemeinek vizsgálata pedig azt mutatta, hogy ugyanazok az elemek többféle környezeti hatás közvetítésében is részt vehetnek. Mindebből az következik, hogy ezek az útvonalak nem különálló egységek, hanem inkább egy bonyolult jelátviteli hálózat részei, amelyben a specificitás inkább kivétel, mint szabály. Így lehetővé válik az adaptív válaszok finomhangolása, valamint a sokféle lehetséges külső hatás közvetítése is viszonylag csekély számú átvivő elem kombinációjával biztosítható. Természetesen az átfedéseket az is magyarázza, hogy a

különböző stresszhatások gyakran azonos gének működésbe lépését teszik szükségessé. A stressz-regulált jelátviteli útvonalak közötti kapcsolatok, az ún. „cross-talk” vizsgálata intenzíven kutatott területté vált az utóbbi időben. A vízhiány által indukált gének többsége indukálható abszcizinsav (ABA) kezelés vagy hideg hatására is, és az ilyen típusú jelátviteli mechanizmusok elemei meglehetősen jól ismertek. Sem *cisz*-elemet, sem más, magasabb szintű szabályozó elemet nem sikerült azonban azonosítani azon az útvonalon, ami az *erd1* gént indukálja *Arabidopsis thaliana*-ban, és amelyik független mind az ABA-, mind a hideg-indukálható gének szabályozási mechanizmusaitól.

Termesztett növényeink szárazságtűrése mesterségesen is módosítható egyrészt idegen gének beépítésével, másrészt a szabályozó folyamatok optimalizálásával. Mindkét megközelítéssel sikerült már kultúrnövények stressz-tűrő képességét génsebészeti úton jelentős mértékben javítani. Ezekkel az eljárásokkal nemcsak a termésmennyiség fokozható, hanem annak minősége is, továbbá kiterjeszthetővé válnak a termesztésbe vont területek földrajzi határai is. Környezetvédelmi szempontból sem elhanyagolható az öntözési igény csökkenése. A hagyományos növénynemesítés lehetőségei tehát e tekintetben is nagymértékben kitágíthatók biotechnológiai, génsebészeti módszerekkel, hatékony eszközt kínálva így a korlátozott vízkészletek fokozott kihasználására.

A gödöllői Mezőgazdasági Biotechnológia Kutatóközpont Növényi Molekuláris Biológia csoportjában Silhavy Dániel kezdte el a vízhiány molekuláris biológiájával kapcsolatos kutatásokat Dr. Bánfalvi Zsófia irányításával. A *Solanum chacoense* vad burgonya fajból általuk izolált *DS2* cDNS nagymértékű homológiát mutatott az ún. *ASR* géncsalád tagjaihoz. E gének funkciója ismeretlen, jellegzetességük azonban, hogy ABA, stressz és termésérés hatására indukálódnak. A *DS2*, az *ASR* génekhez hasonlóan vízhiány következtében erősen indukálódott, ellenben ABA indukciót nem mutatott. Mivel a stressz-toleráns fajták biotechnológiai előállítása a tolerancia kialakítását biztosító gének mellett stressz-indukálható promotereket is igényel, a *DS2* indukciójának vízhiány-specifikus természete a gén szabályozásának vizsgálatára irányította a figyelmet.

Mindezek alapján munkánk célja kettős volt:

[1.] A *DS2* gén vízhiánnyal kapcsolatos szerepének igazolása a gén konstitutív kifejeztetésével, valamint antiszensz gátlásával transzgénikus burgonya növényekben.

[2.] A *DS2* gén szabályozásának vizsgálata, egyrészt a gén ozmotikus stresszel kapcsolatba hozható stressz-hatások általi indukálhatóságának megállapításával, másrészt a *DS2* gén promoterének izolálásával és jellemzésével.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Élő anyagok

A klónozási munkákhoz az *Escherichia coli* DH5α vagy JM109 törzseket használtuk. Növény-transzformációhoz és tranziens expressziós tesztekhez pGV2260 plazmidot hordozó *Agrobacterium tumefaciens* C58C1 törzset használtunk. Kísérleteink során a következő növényfajokat és fajtákat használtuk fel: *Solanum tuberosum* cv. White Lady és cv. Désirée, *Solanum brevidens*, *Lycopersicum esculentum* cv. K252 és cv. Korall, *Nicotiana benthamiana*. A kísérletekhez használt növényeket cserepekben Florasca B típusú virágföldben, üvegházban vagy fitotronban tartottuk. *In vitro* növényanyagokat szárszegmensekről vegetatív módon szaporítottunk MS táptalajon, 16/8 h fény/sötét fotoperiódus és 24°C hőmérséklet mellett. A növények kezelései során különböző környezeti hatásokat illetve kémiai kezeléseket a szakirodalomban leírt körülmények között biztosítottuk.

Molekuláris biológiai eljárások

A nukleinsavak izolálásában és manipulációjában (nukleinsav tisztítás, restrikciós endonukleázokkal történő hasítás, elektroforetikus elválasztás, plazmid vektorba klónozás, polimeráz láncreakció, hibridizációs technikák, szekvenálás, növény-transzformáció, tranziens génexpressziós teszt) a molekuláris biológiában általánosan használt, valamint a gyártó cégek által javasolt eljárásokat követtük.

EREDMÉNYEK

A DS2-vel homológ gének jelenléte és kópiaszáma Solanaceae fajokban

A *DS2* cDNS klónt munkacsoportunk a *Solanum chacoense* vad burgonya fajból izolálta. Southern hibridizációval megvizsgáltuk találunk-e a *DS2*-vel homológ géneket más, a *S. chacoense*-vel rokon fajokban is. A növényi DNS mintákat *Eco*RI, *Hin*dIII vagy *Xba*I restrikciós enzimekkel emésztettük. White Lady burgonya fajtában, *S. brevidens*-ben, és a Korall és K252 paradicsom fajták esetében csak egy-egy erősen hibridizáló jelet kaptunk. Désirée burgonya fajtában *Xba*I emésztés után egy erősebb, míg *Eco*RI vagy *Hin*dIII emésztés során három-három egyenlő intenzitású, de viszonylag gyengébb jelet detektáltunk. A legtávolabbi rokonban, a *Nicotiana benthamiana*-ban csak egy nagyon gyenge, éppen csak látható hibridizációs jelet kaptunk. A *DS2* génnel erősen homológ gének tehát egy, vagy alacsony kópiaszámban – a dohány kivételével - jelen vannak a vizsgált fajokban.

Kísérletek a DS2 gén funkciójának meghatározására

Transzgénikus burgonya növényeket állítottunk elő olyan konstrukciókkal, amelyek a gént vagy konstitutív módon expresszálják, vagy annak expresszióját a gén fordított irányban történő megnyilvánításával, antiszensz RNS-sel gátolják. Amennyiben a DS2 fehérjének lényeges szerepe van a szárazság-tolerancia kialakításában, úgy várhatóan az azt túltermelő növények szárazság-toleranciája valamilyen mértékben megnő, míg az antiszensz-gátoltaké csökken. Tizenöt szensz konstrukciót hordozó vonal közül 12-ben igen magas szintű *DS2* expressziót mutattunk ki, míg a 25 antiszensz vonal között négy olyat találtunk, amelyekben a vízhiány-indukált *DS2* expresszió jelentősen csökkent. A transzgénikus vonalak stressz-toleranciájában azonban semmilyen változást sem sikerült kimutatni. Ennek oka feltehetőleg a stressz-indukált fehérjék nagy mértékű redundanciája, amely általános jelenség a növényvilágban.

DS2 gén expressziója különböző környezeti hatások során

A *DS2* gén átírását Northern hibridizációval vizsgáltuk burgonya és paradicsom növényekben. Megállapítottuk, hogy a *DS2* gén a termesztett burgonyában és paradicsomban is vízhiány-indukálható, továbbá az indukció ABA-független, mivel azt exogén ABA kezeléssel nem lehetett előidézni. A *DS2* gén expressziójának magas szintjét mutattuk ki egy ABA-mentes paradicsom mutáns vonalban (*sitiens*), ami szintén alátámasztja a gén szabályozásának abszcizinsav függetlenségét. Így, bár a szekvencia homológia alapján valószínű, hogy a *DS2* és a többi *ASR*-homológ gén funkciója hasonló, közöttük mégis figyelemre méltó különbség mutatkozik a génexpresszió szabályozásában.

Mivel a különböző abiotikus környezeti hatásokat közvetítő jelátviteli útvonalak számos ponton csatlakoznak egymáshoz, megvizsgáltuk a legfontosabb abiotikus stressz-faktorok hatását a *DS2* gén expressziójára. Megállapítottuk, hogy a *DS2* expresszió vízhiány-specifikus, mivel a gén nem volt indukálható só, hideg, hő, hypoxia, valamint oxidatív stressz kezelések hatására. Ez - figyelembe véve a különböző szignál mechanizmusok közötti intenzív kommunikációt - meglehetősen kivételes jelenségnek számít. A vízhiány-indukálható jelátviteli mechanizmusok közül *Arabidopsis thaliana*-ban részletesen jellemezték az ABA által közvetített, továbbá a hideg által is indukálható útvonalakat, ám az ezektől függetlenül működő, vízhiánnyal kapcsolatos szignál transzdukciós mechanizmusokról csak nagyon hiányos ismeretekkel rendelkezünk. A *DS2* gén expressziójáról megállapítottuk továbbá, hogy indukciója *de novo* fehérje faktorokat igényel, mivel expressziója ciklohéximid - egy hatékony fehérjeszintézis gátló szer - kezeléssel gátolható.

Eddig felsorolt eredményeink indokolttá tették a gén szabályozásának további vizsgálatát, promoterének izolálását és elemzését.

DS2 genomi klónok izolálása és jellemzése

A gén szabályozó régiójának megismeréséhez izoláltuk, és szekvencia szinten jellemeztük a *DS2* gént. A White Lady burgonya vonal genomi klóntárát szűrtük *DS2*-specifikus próbával, plakk hibridizáció módszerével. Három, különböző hosszúságú feltételezett promoter szakaszt tartalmazó fragmentumot klónztunk plazmid vektorba. Ezek 234 bp (pDS2G klón), 498 bp (pDS2H) és 1140 bp (pDS2J) hosszúságú szakaszokat tartalmaztak a transzlációs start kodontól „upstream" irányban. Az 1140 bp hosszú feltételezett promoter szakasz (génbanki azonosító: AJ320154) nem mutatott homológiát semmilyen ismert szekvenciával sem.

StDS2 promoter::GUS fúziós konstrukciók előállítása

A burgonya növény genomjából izolált feltételezett promoter szekvencia transzkripciós aktivitásának igazolására a három promoter fragmentumot a *GUS::NosT* riporter konstrukció elé építettük. A DS2G, DS2H és DS2J klónok szekvenciája alapján a transzláció iniciációs kodonjához képest –1 - –20 szakaszra specifikus PCR primert terveztünk, majd egy vektor specifikus primerrel együtt használva, polimeráz láncreakcióval felszaporítottuk a különböző hosszúságú promoter szakaszokat. A kapott fragmenteket a kanamycin tartalmú táptalajon szelekciót biztosító *npt*II gént hordozó növényi transzformációs vektorba, a *GUS*::*NosT* kazetta elé helyeztük. A keletkezett klónokat a promoter szakasz hosszának megfelelően neveztük el: pGGUS (234 bp), pHGUS (498 bp) és pJGUS (1140 bp).

A DS2 promoter aktivitásának vizsgálata transzgénikus burgonya növényekben

A GGUS, HGUS vagy JGUS konstrukciót hordozó transzgénikus burgonya vonalakat *Agrobacterium tumefaciens* közvetítette transzformációs eljárással hoztuk létre. A GGUS konstrukcióval - valószínűleg technikai okok miatt - nem sikerült hajtást regenerálni, míg a másik két konstrukció használatával 18 JGUS és 97 HGUS kanamycin rezisztens transzgénikus burgonya vonalat kaptunk. A *DS2* promoter aktivitását egyenként teszteltük a transzgénikus növényekről levett és polietilén-glikollal

(PEG) kezelt levelek hisztokémiai festésével. További kísérleteink során két JGUS és két erős festődést mutató HGUS vonalat használtunk.

A növényeket *in vitro* felszaporítottuk, majd üvegházi cserepekbe ültettük át, amelyeket rendszeresen öntöztünk. Egy hetes vízmegvonás után, vagy a levett levelek PEG kezelése után mind a négy *DS2* promotert hordozó transzgénikus vonal GUS aktivitása határozott emelkedést mutatott. Ez azt bizonyította, hogy a szárazság-indukcióhoz szükséges *cisz*-elemeket mindkét vizsgált promoter szakasz tartalmazza. A GUS aktivitás ugyanakkor nem változott sem ABA, sem hideg kezelés hatására. Tehát mindkét promoter szakasz elégséges ahhoz, hogy fenntartsa a *DS2* gén szabályozásának specificitását.

Az StDS2 promoter aktivitásának vizsgálata dohányban

Megvizsgáltuk a burgonya növényekben aktív 498 bp hosszúságú *StDS2* promoter szakasz működését tranziens génexpressziós teszttel a *Solanaceae* családba tartozó *N. benthamiana* vad dohányfajban is. Előzetes ismereteink szerint e faj különösen alkalmas az *Agrobacterium tumefaciens* közvetítette infiltrációs vizsgálatra, és genomjában a *DS2* génnel csak nagyon gyenge kereszt hibridizációt tudtunk kimutatni. A kísérlet során HGUS konstrukciót hordozó *A. tumefaciens* szuszpenziót infiltráltunk *N. benthamiana* levelekbe. Ezután mintáinkat vagy szárítottuk, vagy megfelelően öntöztük, és a *GUS* gén működését hisztokémiai festéssel tettük láthatóvá. A szárított levelekben sokkal intenzívebb kék festődést tapasztaltunk, mint a negatív kontrollok esetében.

A *DS2* gén expresszióját szabályozó jelátviteli mechanizmus tehát minden bizonnyal általánosan jelen van a *Solanaceae* családban tagjaiban, függetlenül a *DS2* gén jelenlététől. Ennek alapján feltételezhető, hogy léteznek más olyan gének is, amelyeket az általunk vizsgált mechanizmus szabályoz.

Új tudományos eredmények

1. Genomi Southern hibridizációval vizsgáltuk a *DS2*-vel homológ gének jelenlétét különböző fajokban. Megállapítottuk, hogy a gén jelen van a termesztett burgonyában, egy gumótlan vad burgonya fajban, a *S. brevidens*-ben, valamint paradicsomban is. Dohányban viszont csak nagyon gyenge kereszt hibridizációt tudtunk kimutatni. A gén valószínűleg egy kópiás vagy nagyon alacsony kópiaszámú.
2. A *DS2* gén funkcióját annak expressziós szintjének megváltoztatásával vizsgáltuk. Transzgénikus burgonya növényeket hoztunk létre, amelyek a *DS2* gént vagy konstitutívan kifejezik, vagy annak endogén expresszióját antiszensz technikával gátolják. Azonban, a *DS2* gén expressziós szintjének megváltoztatása nem okozott fenotípusos változást a transzgénikus vonalakban vízhiány esetén sem, így a gén funkciója továbbra is ismeretlen maradt.
3. A gén szabályozását először Northern analízissel vizsgáltuk. Megállapítottuk, hogy a vízvesztés nagymértékű *DS2* expressziót idéz elő. Továbbá, ez az indukció abszcizinsavtól független, valamint más abiotikus stresszek, például só, hideg, hő, oxidatív stressz vagy hypoxia sincsenek rá hatással. Cikloheximid kezeléssel bizonyítottuk, hogy a gén indukciójához *de novo* szintetizált fehérje faktor(ok)ra van szükség. A *DS2* gén expressziós mintázata burgonyában és paradicsomban megegyezik.
4. A *DS2* gén szabályozásának részletesebb tanulmányozása céljából izoláltuk annak genomi kópiáját *S. tuberosum*-ból. Megállapítottuk, hogy a burgonya *StDS2* gén tartalmaz egy 263 nukleotid hosszú intront, és az 5' végén csonka *S. chacoense* cDNS-hez képest 14 további nukleotidból áll a transzlációs iniciáció helyig. A két gén között 99,35% homológia van DNS szinten, ami aminosav szinten két cserét eredményez. Izoláltuk a gén 1140 nukleotid hosszúságú feltételezett promoter szakaszát, ami nem homológ semmilyen ismert szekvenciával.

5. Az *StDS2* promoter aktivitásának vizsgálatához létrehoztunk három növényi transzformációs vektor konstrukciót. Ezekben a *GUS* riporter gén elé 234 (pGGUS), 498 (pHGUS), illetve 1140 (pJGUS) bp hosszúságú *DS2* promoter szakaszt építettünk be.
6. *Agrobacterium tumefaciens* közvetítette transzformáció után izoláltunk két-két olyan transzgénikus burgonya vonalat, amelyek a HGUS, illetve a JGUS konstrukciót hordozták, és GUS aktivitásuk vízhiány hatására indukálható. Ez az indukció megőrizte specificitását, mivel hasonlóan az endogén *DS2* gén szabályozásához, sem az ABA, sem a hideg kezelés nem volt rá hatással. Az *StDS2* promoter 498 bp szakasza tehát hordozza a *DS2* génre jellemző szabályozáshoz szükséges és elégséges elemeket.
7. *A. tumefaciens* infiltrációs tranziens tesztekkel megállapítottuk, hogy ez a 498 bp hosszúságú *DS2* promoter szakasz vízhiány-indukálhatóan működőképes dohányban is.

KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Csoportunk korábban *Solanum chacoense* vad burgonya fajból izolált egy vízhiány által ABA-tól függetlenül erősen indukálódó gént, a *DS2*-t. Munkánk fő célja e gén funkciójának és szabályozásának megismerése volt.

A *DS2* gén funkcióját, a gén expressziós szintjének megváltoztatásával vizsgáltuk transzgénikus burgonya növényekben. Ez a módszer ismeretlen funkciójú gének vizsgálatának széles körben alkalmazott megközelítési módja. A *DS2* gén esetében azonban a gén expressziós szintjének megváltoztatása nem járt együtt fenotípusos változással. Elképzelhető, hogy a nagyszámú stresszfehérje redundanciája miatt egy gén expressziójának megváltozásával járó hibákat elfedi a többi gén hatása. A *DS2* gén funkciójára szekvenciája, expressziós mintázata közvetett bizonyítékként szolgált. A vízhiány károsító hatásai elleni tényleges védő szerepét azonban alternatív

kísérleti megközelítésekkel lehetne igazolni. Ilyen lehet például a gén kifejeztetése élesztőben. Azonban, az élesztő saját stresszvédő mechanizmusai mellett szintén elképzelhető, hogy a burgonya növényből származó *DS2* gén jelenléte nem okozna mérhető javulást. Ez kiküszöbölhető úgy, hogy a *DS2* gént olyan stressz válasszal kapcsolatos jelátviteli mutánsokban (pl. *SNF*, *Mig*, *Hog*) fejeztetnénk ki, amelyekben az élesztő stressz génjeinek indukciója nem megfelelően működik.

Igazoltuk, hogy a *DS2* gén burgonyában és paradicsomban vízhiány hatására jelentős mértékben indukálódik, abszcizinsavtól, továbbá más stressz-hatásoktól független módon. *S. tuberosum* genomból izoláltuk a *DS2* gént (*StDS2*), és annak 1140 bp hosszúságú promoter szakaszát. *GUS* reporter gén alkalmazásával megállapítottuk, hogy ebből 498 bp hordozza a specifikus expressziót biztosító *cisz*-elemeket. Ozmolitok vagy transzkripciós faktorok alkalmazásával mára számos javított stressztűrő képességű transzgénikus növényt sikerült előállítani. Általános probléma viszont, hogy e növények optimális körülmények között gyakran jelentős növekedési hátrányban vannak a vad típussal szemben. Ennek oka a konstitutív promoterek alkalmazásában keresendő, mivel ezek a növények energiaforrásaikat akkor is a transzgén kifejeztetésére és ozmoprotektáns anyagok termelésére fordítják, amikor arra nincs is szükségük. Az ilyen irányú biotechnológiai fejlesztésekhez tehát stressz-indukálható promoterek alkalmazására volna szükség. A genetikailag módosított fajták termesztésének várható elterjedésével együtt feltehetőleg a stressz-tűrő fajták iránt is jelentős gazdasági igény jelentkezik. Annak ellenére, hogy már számos stressz-indukálható promotert izoláltak, az *StDS2* promoter specificitása olyan nagymértékű, hogy alkalmazása előnybe kerülhet más promoterekkel szemben. Az alternatív megközelítések körét azért is indokolt tágítani, mert az izolált szekvenciák felhasználhatóságát gyakran szabadalmi oltalmak korlátozzák. Csoportunkban már folyamatban van a *DS2* promoter gyakorlati irányú alkalmazhatóságának vizsgálata. A trehalóz szintézisért felelős, élesztő erederű *TPS1* gént fúzionáltattuk a *DS2* promoterrel, és az így létrehozott konstrukcióval transzgénikus burgonya növényeket állítottunk elő.

A gyakorlati felhasználás mellett az *StDS2* promoter további vizsgálata a vízhiány jelátviteli mechanizmusainak további megismeréséhez is hozzájárulhat. Az abszcizinsav által közvetített, és a hideg által is indukálható jelátvitel elemeit meglehetősen jól ismerjük. Ezzel szemben sem *cisz*-, sem *transz*-elemeket nem ismerünk az ezektől a faktoroktól függetlenül szabályozott géneket aktiváló mechanizmus(ok)ból. A *DS2* gént szabályozó *cisz*- és *transz*-elemek azonosításának egyik lehetséges megközelítési módja az ún. „band-shift”, majd a fehérje „foot-print” technikák, végül az élesztő egyhibrid teszt alkalmazása lehet.

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ KAPCSOLÓDÓ KÖZLEMÉNYEK

Szakcikkek lektorált folyóiratokban:

DÓCZI R., CSANAKI C., BÁNFALVI Z. (2002): Expression and promoter activity of the dessication-specific *Solanum tuberosum* gene, *StDS2*. *Plant, Cell & Environment* 25, 1197-1203. p. IF 2001: 3,3

DÓCZI R., KONDRÁK M., BÁNFALVI Z.: Analysis of the dessication-specific gene, *DS2*, in *Lycopersicum esculentum* and *Nicotiana benthamiana*. (készülő kézirat)

Szakcikkek lektorált kiadványokban:

JENES B., TOLDI O., BÁNFALVI Z., DÓCZI R., OREIFIG A., DALLMANN G. (2000): Improvement of tolerance against dehydration stress in cereals. *In:* Use of Agriculturally Important Genes in Agricultural Biotechnology, NATO Science Series, Vol. 319, G. Hrazdina (ed.) pp 7-13

BÁNFALVI Z.., MOLNÁR A., LOVAS Á., DÓCZI R., LAKATOS L., HUTVÁGNER G. (2000): Potato transformations. *In:* Use of Agriculturally Important Genes in Agricultural Biotechnology, NATO Science Series, Vol. 319, G. Hrazdina (ed.) pp 107-111

Szabadalmi bejelentések:

BÁNFALVI ZS., SZTANKÓ X., HUTVÁGNER GY., LAKATOS L., MOLNÁR A., DÓCZI R. (2002): Burgonya transzformációs módszer transzgénikus burgonya fajták előállítására. Magyar szabadalom, NSZO-jelzete: C12N 15/82

BÁNFALVI ZS., DÓCZI R., CSANAKI CS., KONDRÁK M., SILHAVY D. (2001): A *DS2* gén szárazság-specifikus expressziót biztosító promoter szakasza. P0103697 és P0200379 ügyszámú szabadalmi bejelntések a Magyar Szabadalmi Hivatalhoz, PCT bejelentés első fázis

Konferencia-kiadványok (angol nyelvű):

DÓCZI R., CSANAKI C., KONDRÁK M., BÁNFALVI Z. (2001): Expression and promoter activity studies on the dessication-specific *DS2* gene in solanaceous species. 4th International Symposium on Recent Advances in Plant Biotechnology, Trebon, Czeh Republic, September 17-21, Abstract p.111

BÁNFALVI Z., MOLNÁR A., LOVAS Á., DÓCZI R., LAKATOS L., HUTVÁGNER, G. (1999): Potato transformations. Use of Agriculturally Important Genes in Agricultural Biotechnology, NATO Advanced Research Workshop, Szeged, October 17-21, Abstract p. 3

BÁNFALVI Z., DÓCZI R., OREIFIG A., TOLDI O., JENES B. (1999): Expression of water-stress-inducible genes in potato. Japanese-Hungarian Binational Symposium on "Developmental and environmental control of cell differentiation", Szeged, October 14-15, Abstract p. 29.

DÓCZI R., SILHAVY D., OREIFIG A., TOLDI O., JENES B., BÁNFALVI Z. (1999): Genetic analysis of the ABA.independent drought-inducible gene, DS2. Hungarian-Israeli Conference on Plants and Environmental Stress, Szeged, May 10-12, Abstract p. 16

BÁNFALVI Z., SILHAVY D., HUTVÁGNER G., DÓCZI R. (1996): Engeneering for insect and stress resistant crops. The 2nd Brazilian-Hungarian Seminar and Training Course in Plant Biotechnology, Budapest, August-September. Proceedings p. 21-25

HUTVÁGNER G., DÓCZI R., BÁNFALVI Z. (1995): PCR-based cloning of a cytochrome P-450 cDNA from *Solanum chacoense* Bitter. 4th International Symposium on the Molecular Biology of the Potato, Wageningen, July 17-20. Abstracts p. 91

Konferencia-kiadványok (magyar nyelvű):

DÓCZI R., OREIFIG A., TOLDI O., CSANAKI CS., BÁNFALVI ZS. (2000): Egy új típusú szárazság-indukálta gén, a *DS2*, szabályozásának vizsgálata. A Magyar Biokémiai Egyesület Molekuláris Biológiai Szakosztálya 5. Munkaértekezlete, Sopron, május 8-11, Összefoglaló 29. old.

OREIFIG A., DÓCZI R., TOLDI O., KOVÁCS G., JENES B., BÁNFALVI ZS. (1999): A burgonya szárazságindukálható DS2 promóterének aktivitás-vizsgálata egyszikű gabonafélék sejttenyészeteiben. IV. Magyar Genetikai Kongresszus, Siófok, április 11-14. Összefoglaló 137. old.

DÓCZI R., BÁNFALVI ZS. (1998): Egy új típusú szárazság indukálta gén, a *DS2*, szabályozásának és funkciójának vizsgálatára alkalmas vektor konstrukciók létrehozása. IV. Növénynemesítési Tudományos Napok, Budapest, január 28-29. Összefoglaló 78. old.