

Doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

**A foszfatidil-glicerin szerepe a fotoszintetikus szervezetek  
sejtfunkcióiban**

Laczkó-Dobos Hajnalka

*Témavezető:* Dr. Gombos Zoltán

Biológia Doktori Iskola  
Szegedi Tudományegyetem  
MTA Szegedi Biológiai Központ Növénybiológia Intézet

Szeged

2009

## BEVEZETÉS

A fotoszintetikus szervezetek a Naptól érkező energiát hasznosítják, amely fotoszintézisük révén kémiai energiává alakul, amely az életműködések fenntartásához szükséges. A cianobaktériumok a legősibb prokariota szervezetek, amelyek oxigéntermelő fotoszintézisre képesek, a földtörténet során jelentős szerepet töltek be a légkör oxigénnel való dúsításában. A Föld eredeti redukív légkörét ezek az élőlények alakították át oxidatív légkörré. A cianobaktériumok membránfelépítése hasonló a magasabbrendű növények és algák kloroplasztiszaihoz, hiszen rendelkeznek külső és belső membránnal, illetve tilakoidmembránrendszerrel, mint a növények kloroplasztiszai. Az endoszimbiózis elmélet szerint a cianobaktériumokat a kloroplasztisz őseinek tekinthetjük. Egyszerű felépítésűek, gyorsan szaporodnak, egyes fajok teljes genomszekvenciája ismert, könnyen transzformálhatók, lehetővé téve mutánsok előállítását, melyek segítségével *in vivo* tanulmányozható a különböző lipid- és fehérjemolekuláknak a sejtfunciókban játszott szerepe.

A tilakoidmembránok fő komponensei a nagy fehérjekomplexek, amelyek a lipid kettősrétegbe vannak beágyazva. A fotoszintetikus apparátus fehérjei szoros kölcsönhatásban vannak az őket körülvevő lipidmolekulákkal. Éppen ezért a fehérjemolekulák mellett a lipideknek igen fontos szerepük van a sejtfunciók szabályozásában. A cianobaktériumok tilakoid- és citoplazma membránjának lipidjei főként glikolipidek, mellettük kis mennyiségben található a foszfatidil-glicerol (PG), az egyetlen foszfolipid. A PG semleges pH-án negatív töltéssel rendelkezik, amely biztosítja a hidrofób fehérjék beépülését a membrán hidrofób régióiban. A PG-molekulának, amely nélkülözhetetlenek bizonyult a fotoszintetikus szervezetek számára, fontos szerepe van a fotoszintetikus fehérjekomplexek összeszerelésében, valamint ezek működésében, de még számos specifikus szerepét, részletes biokémiáját, hatóhelyét, a különböző lipid-fehérje kölcsönhatásokat nem ismerjük, így ezek felderítésre várnak. A PG-molekula élettani szerepének megértése érdekes kihívás.

## CÉLKITŰZÉSEK

A PG-nek a fotoszintetikus szervezetek szerkezetében és működésében játszott szerepe *in vivo* tanulmányozható cianobakteriális PG-mutánsok segítségével. A PG-nek számos hatása nem ismert, ezért tűztem ki célul a PG sejtfunkciókban játszott szerepének részletesebb tanulmányozását. A PG-hiányos mutánsok vizsgálata során megfigyeltük a PG-molekulák kémiai szerkezetének átépülését, amelynek révén a sejtek alkalmazkodni tudnak a változó környezeti feltételekhez. Az átépülés lényege a PG-ben lévő zsírsavak megváltozása.

Munkám során a következő célokat tűztem ki:

- I. Olyan, a PG-szintézisben gátolt *Synechocystis* sp. PCC6803 törzs létrehozása, amely alkalmasabb a PSII vizsgálatára, mint a korábban tanulmányozott mutánsok.
- II. A PG szerepének tanulmányozása a PSII RC szerkezeti felépítésében, valamint a PG-kiürülés hatásának vizsgálata a PSII funkciókra.
- III. A cianobaktériumhoz kívülről adott, szintetikus PG-molekulák átépülésének vizsgálata.

## KÍSÉRLETI ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

### **A *Synechocystis* sp. PCC6803 PAL/ $\Delta$ *cdsA* és $\Delta$ *pgsA* nevelési körülményei**

A *Synechocystis* sp. PCC6803 PAL/ $\Delta$ *cdsA* és  $\Delta$ *pgsA* sejteket BG11 médiumban neveltük, amely tartalmazott még 5 mM HEPES-NaOH (pH 7,5) puffert, 20  $\mu$ g/ml kanamicint és 20  $\mu$ M PG(18:1/18:1)-t (Sigma, St. Louis). A sejteket 30 °C-on, folyamatos 30  $\mu$ mol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> intenzitású fehér fényen neveltük. A kultúrákat egy körkörös rázóval állandóan rázattuk (100 rpm), így biztosítva a kultúrák levegőztetését. A PG kiürülésének vizsgálatához a sejt kultúrát lecentrifugáltuk, a PG-tartalmú médiumot kimostuk, majd a sejteket PG-mentes BG11 médiumban neveltük tovább.

## **A PAL/ $\Delta$ *cdsA* mutáns létrehozása**

A *Synechocystis* 1,4 kb genomi szakaszt amplifikáltuk PGF (5'-AGGTCCGCAACGTGGAGGTG-3') és PGR (5'-CTGGAACGACTTGGGAAGTG-3') primerek segítségével. A primerek megválasztása a *Synechocystis* ismert teljes genomi szekvenciája (<http://www.kazusa.or.jp/>) alapján történt. A *cdsA* gén *MscI* és *NsiI* közti 543bp hosszú fragmensét kanamicinrezisztencia kazettával (*aphI* gént tartalmazó kazetta) helyettesítettük. A transzformánsok szelektálása BG11-tartalmú agar lemezekon történt, amelyek 20  $\mu$ M PG-t és 50  $\mu$ g/ml kanamicint is tartalmaztak. A mutánsok teljes szegregálását PCR reakcióval is ellenőriztük, valamint igazoltuk a PG szintézisére képtelen mutáns előállítását azzal, hogy PG hozzáadása nélkül a sejtek nem szaporodtak, illetve a kultúra nem volt fenntartható.

## **A sejtek szaporodásának és pigmenttartalmának mérése**

A folyadékultúrában sejszámnövekedést az optikai denzitás 750 nm-nél történő ( $OD_{750}$ ) mérésével követtük. A sejtek pigmenttartalmának változását abszorpciós spektrumok felvételével követtük. A minták közel azonos denzitásuak voltak 750 nm-en. A klorofillkoncentráció méréséhez 90%-os metanollal extraháltuk a pigmenteket, majd megmértük az extraktumok abszorpcióját 665 nm-en. A számításhoz használt extinkciós koefficiens: 78,95 l/g/cm.

## **Morfológiai vizsgálatok**

Az összecentrifugált cianobaktérium sejteket 0,1 M foszfát pufferben (PB, ph:7,4) oldott 1%-os formaldehid és 1%-os glutáraldehid oldatban 4 °C-on négy órán keresztül fixáltuk. Rövid foszfátpufferes mosás után az utórögzítés 0,1 M PB-ben oldott 1%-os ozmium-tetroxiddal történt. A mintákat növekvő alkohol koncentrációval víztelenítettük, majd műgyantába ágyasztuk. A polimerizáció után a blokkokból Reichert Ultracut E típusú ultramikrotómmal 85-90 nm-es ultravékony metszeteket készítettünk, amelyeket uranil-acetáttal és ólom-citráttal

kontrasztosítottunk, majd Zeiss EM 902 elektronmikroszkóppal tanulmányoztunk. A sejtek méretének összehasonlításához lemértük az azonos nagyítású fotókon látható nem osztódó sejtek átmérőjét  $\mu\text{m}$ -ben.

### **Tilakoidmembrán izolálása**

A sejt kultúrákat  $75 \mu\text{g}$  klorofilltartalomra állítottuk be és [ $^{35}\text{S}$ ] metioninnal ( $>1000 \text{ Ci mmol}^{-1}$ , Izótop Intézet, Magyarország) jelöltük  $60 \mu\text{mol}$  foton  $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$  fényerősségen és  $29 \text{ }^\circ\text{C}$ -on. A tilakoidok kinyeréséhez az ép sejteket  $150\text{--}200 \mu\text{m}$  átmérőjű üveggyöngy segítségével  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ -on feltártuk, és differenciálcentrifugálással a membránfrakciót összegyűjtöttük. A sejtek feltárása és a tilakoidok felszuszpendálása a következő összetételű pufferben történt:  $25 \text{ mM}$  MES-NaOH, pH 6,5,  $10 \text{ mM}$   $\text{CaCl}_2$ ,  $10 \text{ mM}$   $\text{MgCl}_2$ , és  $25\%$  (v/v) glicerint [Biochemistry 34 (1995) 9625–9631].

### **A fehérjék analízise: kétdimenziós gélelektroforézis**

Az izolált tilakoidmembránokat dodecil- $\beta$ -D-maltoziddal (dodecil-maltozid: klorofill arány 20:1, w/w) szolubilizáltuk és 5-14%-os blue-natív gélen megfűtöttük. A blue-natív gélből a protein-komplexeknek megfelelő csíkot kivágtuk, inkubáltuk 30 percig  $25 \text{ mM}$  Tris-HCl (pH 7,5) pufferben, amely tartalmazott 1% SDS-t, utána a denaturáló gélre felvittük. A komplexek fehérjeösszetételét egy második dimenziós gélelektroforézis révén állapítottuk meg egy denaturáló 12-20%-os lineáris gradiens SDS-poliakrilamid gél segítségével, amely 7 M ureát is tartalmazott [Anal. Biochem 199 (1991) 223–231]. A gélben a fehérjéket Coomassie Brilliant Blue-val festettük meg. A radioaktívan jelölt fehérjékből jövő jelet röntgenfilmen detektáltuk. Az exponálási idő 2-3 nap volt, szobahőmérsékleten.

## **Fluoreszcencia emissziós spektrumok felvétele 77 °K hőmérsékleten**

Alacsony hőmérsékletű steady-state fluoreszcencia spektrumokat vettünk fel 600-780 nm hullámhossztartományban, 437 nm-es gerjesztés után. A spektrofluoriméter (Fluorolog-3/Jobin Yvon-Spex Instrument S.A., Inc.) egy adapterrel volt ellátva, amely lehetővé tette a folyékony nitrogénben történő mérést. Az emissziós spektrumokat a fotomultiplier érzékenységehez korigáltuk, és a 700 nm hullámhossznak megfelelő fluoreszcenciaintenzitásra normáltuk.

## **A fotoszintetikus oxigénfejlesztő aktivitás mérése**

A sejtek fotoszintetikus oxigénfejlesztését Clark-típusú oxigénelektrod segítségével mértük. A PSII-ből származó oxigénfejlődést mértük a H<sub>2</sub>O-tól a külsőleg adott mesterséges elektronakceptorig (500 μM p-benzokinon). Az oxigénfejlődés méréséhez a sejteket BG11 médiumban mostuk, majd friss BG11 tápoldatban felfuszpendáltuk. A sejteket vörös, PSII-t gerjesztő fényvel világítottuk meg, melynek erőssége 500 μmol foton m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> volt.

## **Termolumineszcencia mérések**

A termolumineszcencia mérésekhez a sejteket lecentrifugáltuk és friss BG11 médiumban felfuszpendáltuk, majd a sejtuszuspenziót 10 μg/ml klorofilltartalomra hígítottuk ki. A termolumineszcencia görbék felvételét -10 °C tól +80 °C-ig terjedő hőmérséklet-tartományban végeztük. A minták által kibocsátott fényt egy vörös érzékenységű fotomultiplier (Hamamatsu R/2228) segítségével mértük, az így kapott felerősített jelet számítógépes program segítségével értékeltük ki. A mintatartó hőmérsékletét egy platina alapú hőmérővel követtük, amely a minták alatt helyezkedett el. A hűtést folyékony nitrogén biztosította. A mintákat a fagyasztást megelőzően két 5 μs-os flash-el világítottuk meg 5 °C-on.

## **Klorofill-a fluoreszcencia mérése**

A sejt kultúrákból vett minták klorofilltartalmát 20 µg/ml koncentrációra állítottuk be. A sejtek a mérés előtt két óráig sötétadaptálva voltak. A fluoreszcencia méréseket egy Handy-PEA készülék (Hansatech Instruments Ltd, UK) segítségével végeztük. A 20 µg klorofilltartalmú mintát Whatman szűrőpapír (GF/C) korongra szűrtük. A sejteket tartalmazó korongot folyamatos 650 nm-es vörös fényvel világítottuk meg, amely 3500 µmol foton m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> intenzitású volt. A fényforrást három LED biztosította, amelyek fénye egy 5 mm átmérőjű körbe fókuszálódott. Az első megbízható mérési pont, ahol a fluoreszcencia tranziens (jel) jelentkezett, 20 µs volt. Ezt az intenzitásértéket vettük F<sub>0</sub>-nak a sötétadaptált sejteknél. A mérések időtartama 3 s volt.

## **A lipidtartalom gázkromatográfiás analízise**

A gázkromatográfiás vizsgálatokhoz először izoláltuk a cianobaktérium sejtekből (kb. OD<sub>750</sub>=50) a különböző lipidosztályokat, majd az elválasztott PG-molekulákat észteresítettük. A lipideket kloroform és metanol 1:2 arányú elegyével vontuk ki intakt sejtekből [J. Biochem. Physiol. 37 (1959) 911-917]. A lipidek elválasztása szilikagél vékonyréteg lapokon (TLC) (Merck 5721) történt kloroform, metanol és 28% ammónium-hidroxid 65:35:5 térfogatarányú futtatóelegyben, szobahőmérsékleten. Az elválasztott lipid frakciókat ANSA (8-anilino-1-naftalén-szulfonsav) kezelés után UV-fény alatt megjelöltük, és 50 µg 15:0 zsírsav, mint belső kontroll felvitele után a lemeztől lekapartuk. A lemeztől lekapart lipideket 5%-os HCl-t tartalmazó metanolban 85 °C-on 2 óra hosszat észteresítettük. Az így nyert zsírsav-metilésztereket hexánba átrázva Supelco SP-2330 kapillárisoszlopon Hewlett Packard HP6890 gázkromatográfval választottuk el [Methods Enzymol. 167 (1988) 251-259].

## Tömegspektrometriai analízis

Tömegspektrometriai analízishez összlipidet vontunk ki kb.  $OD_{750}=50$  mennyiségű sejtből, metanol 1:2 arányú elegyével. A PG-típusok szemi-kvantitatív analíziséhez lipidizolálás előtt a mintákhoz belső standardként 20  $\mu\text{g}$  PG(14:0/14:0)-t (Avanti Polar Lipids, Alabaster, USA) adtunk. Tömegspektrometriai mérés előtt az izolált lipid mintákat százszorosára hígítottuk acetonitril/víz elegyével (1:1). A mintákat (50  $\mu\text{l}$ ) direkt infúzióval juttattuk a tömegspektrométer készülékébe, 5  $\mu\text{l}/\text{ml}$  áramlási sebességgel. A készülék egy FTICR (hibrid lineáris ioncsapdás-Fourier transzformációs ionciklotron rezonancia) tömegspektrométer, 7T szupervezető mágnissel (LTQ-FT; ThermoFisher, San Jose, CA), amely egy elektropray típusú ionforrással volt ellátva, negatívion-módban működve.

Az egyszeres negatív töltésű molekulaionokat  $[\text{M-H}]^-$  az FTICR teljes MS spektruma alapján azonosítottuk, amelyek pontos tömeget szolgáltatnak (szerkezeti információ), az ionintenzitások pedig mennyiségi elemzést tettek lehetővé. A spektrumokat 150-2000 Th tartományban vettük fel, a készüléket pedig úgy állítottuk be, hogy 400 Th tömeg/töltésnél ( $m/z$ ) a tömegfelbontás ( $m/\Delta m$ ) érje el az 50 000-et. Körülbelül 80 spektrumot átlagoltunk mintánként. További részletes szerkezeti jellemzés céljából tandem MS (MS/MS) analízist végeztünk. A molekulaionokat  $[\text{M-H}]^-$  elkülönítettük, ütközésindukált disszociációnak (CID) vetettük alá, a keletkezett fragmens ionokat a lineáris ioncsapda  $m/z$  alapján azonosítottuk (MS/MS spektrum). Az elkülönítési szélesség 1,0 Th, az ütközési energia 15%-ra volt beállítva. A koncentrációk becsléséhez a következő egyszerű kalibrációs egyenletet használtuk:

$$c_A / c_{IS} = k_A \cdot (I_A / I_{IS})$$

ahol  $c_A$  az analitikum (analizálandó molekula) koncentrációja,  $c_{IS}$  a belső standard [PG(14:0/14:0)] koncentrációja,  $I_A$  és  $I_{IS}$  az analitikum és a belső standard ionintenzitásai.



## EREDMÉNYEK

Kutatásaim eredményeit röviden, pontokban szedve a következőkben foglalom össze:

I. Létrehoztuk a PAL/ $\Delta cdsA$  mutáns törzset, amelyben inaktiváltuk a *cdsA* gént, amely a CDP-DG szintáz nevű enzimet kódolja, mely a PG-szintézis egyik enzime. A *cdsA* gén inaktiválását a fikobiliszóma-mentes PAL mutánsban hajtottuk végre, hiszen a fikobiliszóma hiánya következtében számos előnyös tulajdonsága van: a PSI reakciócentrumhoz (RC) képest több PSII RC-ot tartalmaz, mint a vad típusú sejtek, ezért a fluoreszcencia adatok könnyebben értelmezhetők, hiszen a PSII-ből származó jelek nem fednek át a fikobiliszómából jövő jelekkel. Ha a nevelési médiumból a PG-t elvontam, nyomonkövethettem a PG-megvonás következményeit

A sejtek osztódásának sebessége a PG-megvonás hatására fokozatosan csökkent, majd leállt. A sejtek mérete nőtt, hiszen PG hiányában a sejtek megrekedtek az osztódás egy adott fázisában, és nem tudtak kettéválni. A méretnövekedés a PG-nek a sejtosztódás szabályozásában játszott szerepét valószínűsíti. A sejtek klorofilltartalma jelentősen nem változott, de a tilakoidmembránok rendezettsége felbomlott.

II. A PAL/ $\Delta cdsA$  mutáns ideális kísérleti rendszer a PSII szerkezetének és működésének tanulmányozására. Kétdimenziós gélelektroforézist alkalmazva, PG-megvonás hatására a PSII RC core-komplexek (RCC) szerkezetének destabilizációját figyelhetjük meg, amely a CP43 leválásának köszönhető. Tehát a PG molekula a CP43 klorofill-protein antennát a PSII RCC-hoz kapcsolja. A PSI RCC trimerek és PSII RCC dimerek lecsökkenése is megfigyelhető, hiszen a PG-nek szerepe van a trimerizációban és a dimerizációban egyaránt. A fehérjeszintézist a [ $^{35}\text{S}$ ] metionin fehérjékbe történő beépülésével követtük. A jelölt

metionin beépülése a főbb PSI és PSII fehérjékbe PG hiányában is folyamatosan megtörtént.

Az alacsony hőmérsékletű fluoreszcencia mérések is alátámasztják a CP43 leválását a PSII RCC-ből. PG hiányában a 685 nm-es emissziós csúcs megnövekedett, hiszen gátolt az energia hatékony továbbadása a CP43-ról a CP47 irányába, amit a CP43 leválása magyarázhat.

PG-megvonás hatására az elektrontranszport-folyamatok zavart szenvedtek. Főként a PSII akceptor oldala sérült. Ezt támasztja alá az oxigénfejlődés inaktiválódása, amely a  $Q_B$  környezetében történő változásra utal. A TL görbe megváltozása, vagyis a B-sávnak Q-sáv irányába való eltolódása, szintén az elsődleges és másodlagos kinonakceptorok közötti elektrontranszportban történő zavart jelez, ami szintén alátámasztja az akceptoroldali gátlást. Az OJIP fluoreszcencia-indukció is megváltozik PG-megvonás hatására, ami szintén a  $Q_A$  és  $Q_B$  közötti elektrontranszport-folyamatok lassulására utal.

A PG-megvonás a donoroldalt is károsíthatja, valószínűleg egy későbbi stádiumban. Ezt bizonyítja a hőkezelt minták OJIP fluoreszcenciája. Ez a hatás nagyon kicsinek tűnik, és feltételezhető, hogy a CP43-nak a PSII RCC-ből való leválásával hozható összefüggésbe, mivel ez a klorofill-fehérje antenna közvetlenül részt vesz a  $Mn_4Ca$  klaszter RC-hoz történő kapcsolódásában.

III. A  $\Delta pgsA$  és PAL/ $\Delta cdsA$  sejteket kívülről adott PG(18:1/18:1)-el tartottuk életben. GC vizsgálataink során megfigyeltük, hogy a mutáns sejtek PG molekulái a 18:1 zsírsavon kívül más zsírsavakat is tartalmaztak. Ez bizonyítja, hogy a szintetikus PG *in vivo* átépült, számos természetes PG molekulatípust hozva létre. Az átépülés során képződött PG-molekulákat nagyérzékenységű tömegspektrometria módszerével azonosítottuk. Az átépítés termékei bizonyítékul szolgálnak arra, hogy a vizsgált *Synechocystis* cianobaktérium rendelkezik azzal az enzimkészlettel, amely képes átépíteni a PG-molekulát.

Az átépüléshez szükséges enzimek a következők: a foszfolipáz  $A_1$  és  $A_2$ , acil-hidrolázok, amelyek szükségesek a zsírsavaknak a glicerinvázról való

lehasításához; a LPG-aciltranszferázok, melyek beépítik az újabb zsírsavakat és az acil-deszaturázok, amelyek a kettős kötéseket alakítják ki a zsírsavláncban. Ezen enzimeket és génjeiket *Synechocystis* cianobaktériumban eddig még nem sikerült azonosítani.

Kísérleti eredményeim bizonyítják, hogy cianobaktériumokban a PG-átépülési folyamatok zajlanak, amelyek biztosítják a sejek változó környezeti feltételekhez való alkalmazkodását.

## PUBLIKÁCIÓS LISTA

### A dolgozatban felhasznált közlemények

**Laczko-Dobos H**, Ughy B, Toth SZ, Komenda J, Zsiros O, Domonkos I, Parducz A, Bogos B, Komura M, Itoh S, Gombos Z (2008) Role of phosphatidylglycerol in the function and assembly of Photosystem II reaction center, studied in a *cdsA*-inactivated PAL mutant strain of *Synechocystis* sp. PCC6803 that lacks phycobilisomes. **Biochim Biophys Acta** **1777**: 1184-1194. IF: 3.835

**Laczko-Dobos H**, Fryčák P, Ughy B, Domonkos I, Wada H, Prokai L, Gombos Z (2009). Remodeling of Phosphatidylglycerol in *Synechocystis* PCC6803/ $\Delta$ *pgsA*. BBA Molecular and Cell Biology of Lipids (benyújtva).

Domonkos I, **Laczko-Dobos H**, Gombos Z (2008) Lipid-assisted protein-protein interactions that support photosynthetic and other cellular activities. **Prog Lipid Res** **47**(6): 422-435. IF: 11.194

## **A dolgozat témájához kapcsolódó közlemények**

Domonkos I, Malec P, **Laczko-Dobos H**, Sozer O, Klodawska K, Wada H, Strzalka K, Gombos Z (2009) Phosphatidylglycerol depletion induces an increase in myxoxanthophyll biosynthetic activity in *Synechocystis* PCC6803 cells. **Plant Cell Physiol.** 50(2): 1-9. IF: 3.31

Bogos B, Ughy B, Domonkos I, **Laczko-Dobos H**, Komenda J, Abasova L, Cser K, Vass I, Sallai A, Wada H, Gombos Z (2009). Phosphatidylglycerol depletion affects photosystem II activity in *Synechococcus* sp. PCC 7942 cells. Photosynth Res (megjelenés alatt).

**Laczko-Dobos H**, Szalontai B (2009). Lipids, proteins, and their interplay in membrane dynamics. Biochemistry (megjelenés alatt).

Sozer O, Komenda J, Ughy B, Domonkos I, **Laczko-Dobos H**, Malec P, Gombos Z and Kis M (2009). Involvement of Carotenoids in the Synthesis and in the Assembly of Protein Subunits of Photosynthetic Reaction Centers of *Synechocystis* sp. PCC 6803. Plant Cell Physiol (benyújtva).

### **Absztrakt**

Gombos Z, Toth S, **Laczko-Dobos H**, Ughy B (2007) Involvement of phosphatidylglycerol in the assembly and function of photosystem II. Photosynth Res 91: 141

## TÁRSSZERZŐI NYILATKOZAT

Alulírottak nyilatkozunk, hogy a jelölt téziseit ismerjük, a tézisekben foglalt tudományos eredményeket PhD fokozat megszerzéséhez nem használtuk fel és azokat ilyen célból a jövőben sem fogjuk használni. Elismerjük, hogy Laczkó-Dobos Hajnalkának az alábbi közlemények eredményeinek elérésében meghatározó fontosságú szerepe volt, így a közlemények anyagát Ph.D értekezésében felhasználhatja.

**Laczkó-Dobos H**, Ughy B, Toth SZ, Komenda J, Zsiros O, Domonkos I, Parducz A, Bogos B, Komura M, Itoh S, Gombos Z (2008) Role of phosphatidylglycerol in the function and assembly of Photosystem II reaction center, studied in a *cdsA*-inactivated PAL mutant strain of *Synechocystis* sp. PCC6803 that lacks phycobilisomes. **Biochim Biophys Acta** 1777: 1184-1194.

Domonkos I, **Laczkó-Dobos H**, Gombos Z (2008) Lipid-assisted protein-protein interactions that support photosynthetic and other cellular activities. **Prog Lipid Res** 47(6): 422-435.

.....  
Dr. Ughy Bettina

.....  
Dr. Domonkos Ildikó

## IGAZOLÁS

Laczko-Dobos Hajnalka PhD munkájának témavezetőjeként igazolom, hogy a tézise az általa végzett munka eredményeit tükrözi és PhD értekezéséhez felhasznált közlemények létrehozásához jelentős mértékben hozzájárult:

**Laczko-Dobos H**, Ughy B, Toth SZ, Komenda J, Zsiros O, Domonkos I, Parducz A, Bogos B, Komura M, Itoh S, Gombos Z (2008) Role of phosphatidylglycerol in the function and assembly of Photosystem II reaction center, studied in a *cdsA*-inactivated PAL mutant strain of *Synechocystis* sp. PCC6803 that lacks phycobilisomes. **Biochim Biophys Acta** **1777**: 1184-1194.

**Laczko-Dobos H**, Fryčák P, Ughy B, Domonkos I, Wada H, Prokai L, Gombos Z (2009). Remodeling of Phosphatidylglycerol in *Synechocystis* PCC6803/ $\Delta$ *pgsA*. BBA Molecular and Cell Biology of Lipids (benyújtva).

Domonkos I, **Laczko-Dobos H**, Gombos Z (2008) Lipid-assisted protein-protein interactions that support photosynthetic and other cellular activities. **Prog Lipid Res** **47**(6): 422-435.

.....  
Dr. Gombos Zoltán-témavezető