



Biotechnológia a
Debreceni Egyetemen – 2024
Szimpózium

ABSZTRAKTFÜZET

A MANGÁN(II) ION KONCENTRÁCIÓ ÉS A CITRÁT EXPORT KAPCSOLATA *ASPERGILLUS NIGER* CITROMSAV FERMENTÁCIÓ SORÁN

Karaffa Levente, Bíró Vivien, Márton Alexandra, Fekete Erzsébet

Debreceni Egyetem, Természettudományi és Technológiai Kar,
Biotechnológiai Intézet, Biomérnöki Tanszék, Debrecen

levente.karaffa@science.unideb.hu

Az Ascomycota törzsbe tartozó *Aspergillus niger* fonalas gomba 95%-ot meghaladó hozammal képes kiválasztani az ízesítő- és tartósítószerként, illetve korróziókezelőként használt citromsavat, ha megfelelő összetételű táptalajban növesztik. Az erre épülő süllyesztett fermentációs technológia csaknem kizárólagos módja a citromsav ipari előállításának. A magas hozamhoz több, önmagában is szokatlan körülmény együttesére van szükség – alacsony kémhatás, magas oldott oxigén és kiindulási szénforrás koncentráció, növekedés-limitáló nitrogén, foszfor-, mangán(II)- és vas(II) ion szintek. A leginkább kritikus közülük a Mn(II)-hiány: 5 ppb érték fölött a citromsav kihozatal jelentősen csökken.

A citromsav túlnyomó részben a *cexA* gén által kódolt citrát exporter révén jut ki a sejtből. Nagy termelőképességű *A. niger* törzs transzkriptumát alacsony és magas (gátló hatású) Mn (II) ion koncentráció mellett vizsgálva bebizonyítottuk, hogy a *cexA* minden más génnél érzékenyebben reagál a Mn(II) ion koncentráció változására, kifejeződése mangánhiány esetén a legerősebb. CRISPR/Cas9 génszerkesztő technológia segítségével a génre nézve hiány- illetve túltermelő mutánsokat állítottunk elő, majd a mutáns törzseket fenotípus vizsgálatnak vetettük alá. Megállapítottuk, hogy a *cexA* konstitutív túltermelésével még Mn(II) ion jelenlétében is fokozni lehet a citromsav kihozatalt, hiányában viszont a termelés minimálisra csökken. Összefoglalóan, a *cexA* gén által kódolt transzporter fehérje meghatározó szerepet játszik a mangán-effektusban az *A. niger* citromsav fermentáció során.

ROBUSZTUS GOMBA: AZ *ASPERGILLUS NIGER* BIOTECHNOLÓGIAI JELENTŐSÉGE

**Bíró Vivien, Márton Alexandra, Faggyas Flóra, Nagy Martin,
Fekete Erzsébet, Karaffa Levente**

Biomérnöki Tanszék, Természettudományi és Technológiai Kar, Debreceni
Egyetem, 4032 Debrecen, Magyarország

biro.vivien@science.unideb.hu

A modern gombabiotechnológia 1919-ben született, amikor a Pfizer elkezdte kihasználni az *Aspergillus niger* azon képességét, hogy jelentős mértékben túltermeli és kiválasztja a citromsavat. Az ipari biotechnológia egyik legfontosabb platformjának számító *A. niger* figyelemre méltó tulajdonsága a robusztusság; szélsőséges környezeti feltételek mellett is képes túlélni és növekedni.

Az *Aspergillus niger* széles hőmérsékleti tartományban (6°C és 47°C között), valamint erősen savas közegben (pH<1,2) is képes növekedni. Rendkívüli savtűrése hasznos tulajdonság az ipari fermentációk során, melyek sokszor alacsony pH-n mennek végbe.

A gomba a legkülönbözőbb szubsztrátumokat képes energiaforrásként felhasználni, beleértve a különféle szénhidrátokat, szerves savakat és alkoholokat. Ezek a tulajdonságok teszik az *Aspergillus niger*-t robusztussá, és széles körben alkalmazhatóvá a különféle ipari folyamatokban, például enzimek, szerves savak és egyéb biotechnológiai termékek előállításában.

Bíró Vivient a Gróf Tisza István Debreceni Egyetemért Alapítvány Kiválósági PhD Ösztöndíja, valamint a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal forrásából a Kulturális és Innovációs Minisztérium EKÖP-24-4 Egyetemi Kutatói Ösztöndíj Programja támogatta.

ALTERNATÍV OXIDÁZ A BIOTECHNOLÓGIÁBAN: A KEVESEBB NÉHA TÖBB?

**Márton Alexandra, Bíró Vivien, Nagy Martin, Faggyas Flóra,
Flipphi Michel, Fekete Erzsébet, Karaffa Levente**

Debreceni Egyetem, Természettudományi és Technológiai Kar, Biomérnöki
Tanszék, 4032 Debrecen, Magyarország

marton.alexandra@science.unideb.hu

Az alternatív oxidáz (Aox) egy alternatív légzési út terminális oxidáza, mely a fő légzési lánc mellett a legtöbb növényben és gombában jelen van, továbbá bizonyos állati sejtekben is megtalálható.

Az *Aspergillaceae* gombacsaláddhoz, amely magába foglalja az *Aspergillus* és *Penicillium* nemzetségeket, számos olyan faj tartozik, melyek az ipari biotechnológiában meghatározóak (pl: *A. niger*, *A. terreus*, *A. oryzae*, *P. chrysogenum*). Esetükben az Aox szerepe elengedhetetlen metabolikus termékek felhalmozásához. Habár a fehérje pontos biokémiai funkciója nem teljesen tisztázott, a származásának és eredetének tanulmányozása értékes információkat nyújthat.

Az *A. niger* csaknem a legfontosabb termelő faj a biotechnológiában - szerves savak, fehérjék, enzimek és másodlagos metabolitok előállításának köszönhetően. Az Aox kulcsfontosságú a citromsav fermentáció során: alternatív légzési utat katalizálva szétkapcsolja a NADH regenerációt és ATP szintézist, így a glikolitikus fluxus megerősödik. Ezen kívül az Aox működése intenzív levegőztetést igényel, viszont így megnövekszik a reaktív oxigénradikálok mennyisége, de az enzim eliminálja azokat, megvédve így a sejtet. Hasonló a helyzet az *A. terreus* itakonsav termelése során is, ahol szintén megnő az Aox aktivitása stresszhelyzetben.

Kutatócsoportunk az *aox* eredetét és evolúcióját tanulmányozta, továbbá *A. niger* esetében deléciós mutánsokkal végeztünk kísérleteket azt vizsgálva, hogy a gének hiánya milyen hatással van a citromsav termelésre.

Bíró Vivient a Gróf Tisza István Debreceni Egyetemért Alapítvány Kiválósági PhD Ösztöndíja, valamint a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal forrásából a Kulturális és Innovációs Minisztérium EKÖP-24-4 Egyetemi Kutatói Ösztöndíj Programja támogatta.