

Az alternatív oxidáz evolúciós történetének és a citromsavgyártásban nyújtott szerepének áttekintése

Szojka Anikó

Debreceni Egyetem Agrár- és Gazdálkodástudományok Centruma, Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar, Élelmiszertudományi, Minőségbiztosítási és Mikrobiológiai Intézet, Debrecen
aniko.szojka@gmail.com

ÖSSZEFOGLALÁS

Minden élőlény számtalan olyan környezeti hatásnak van kitéve, melyek életfolyamataikat kedvezőtlenül befolyásolják. A megváltozott körülményekhez folyamatosan alkalmazkodnak, a kialakult stresszhatásokra védekezési mechanizmusokkal válaszolnak. Képesek különböző jelátviteli folyamatok révén fokozni vagy csökkenteni génjeik kifejeződését és ebből következően módosítani anyagcsere folyamataikat. Az érdeklődésem középpontjában álló alternatív oxidáz (AOX) nevű enzim expressziója gyakran megnő biotikus és abiotikus stressz hatására. Eddig bizonyított és vélt funkciói szerepet játszanak az élőlények különböző körülményekhez való alkalmazkodásában, mint például a nehézfém felhalmozódás, fertőzés, oxidatív stressz, tápanyaghiány és oxigénhiány.

Az AOX a divas karboxilát fehérjecsald tagja. A divas karboxilát fehérjecsald tagjai jelen vannak az élőlények minden királyságában. Ősi eredetűnek tekintik őket. Úgy vélik, hogy szulfid-tűrő és oxigén-redukáló képességük szerepet játszhatott az élőlények túlélésében az anaerob és az aerob világ közti átmenet során. Az AOX vélhetően elsődleges endoszimbiózis során került az eukariótákba, és ez az esemény tette lehetővé a mitokondrium kialakulását. Ezt követően vertikális öröklődés, valamint másod, ill. harmadlagos endoszimbiózis által terjedt el az eukarióták körében. Feltételezhető, hogy a baktériumok horizontális géntranszferrel szereztek AOX-ot növényektől.

Az AOX katalizálta alternatív légzés fontos szerepet kap a mikroszervezetek energiatermelő és bioszintetizáló rendszerének működésében. Ezekben az esetekben a redukált kofaktorok regenerálása alapvető feltétel, ezért sebességmeghatározó lehet a biotechnológiai folyamatok során, beleértve a citromsavtermelést is.

Kulcsszavak: alternatív oxidáz, AOX, citromsav, *Aspergillus niger*

SUMMARY

All organisms are exposed to countless environmental effects, which influence in a disadvantageous way their life processes. They continuously adapt to the changing conditions and respond to the stress impacts by defence mechanisms. Through different signal transduction pathways they are able to increase or decrease the expression of their genes and consequently modify their metabolic processes. My interest focuses on alternative oxidase (AOX) enzyme whose expression is often increased under biotic and abiotic stress. The so far proven and putative functions of the AOX play a role in the ability of organisms to adapt to different conditions, such as heavy metals accumulation, pathogenic infection, oxidative stress and lack of oxygen or nutrients.

AOX is a member of the di-iron carboxylate protein family. Members of the di-iron carboxylate protein family are present in all kingdoms of life. They are considered to have ancient origin. It is believed that their sulfide-resistant and oxygen-reducing ability played a role in the survival of organisms during the transition between the anaerobic and the aerobic world. It is assumed that the AOX arose in eukaryotes through a primary endosymbiotic event, and this event made possible the development of mitochondria. Afterwards, vertical inheritance, and secondary and tertiary endosymbiotic events led to its spread among eukaryotes. It is assumed that bacteria obtained AOX by horizontal gene transfer from plants.

AOX-catalyzed alternative respiration plays an important role in the operation of energy-producing and biosynthesizing system of microorganisms. In these cases, the regeneration of reduced cofactors is an essential condition, and therefore may be rate-limiting for biotechnological processes, including the citric acid production.

Keywords: alternative oxidase, AOX, citric acid, *Aspergillus niger*

MI AZ AOX?

Már 1929-ben azt tapasztalták, hogy a növények légzése nem gátlható teljes mértékben citokróm oxidáz inhibitorokkal. Az erre irányuló kutatások egy alternatív mitokondriális légzési útvonalat azonosítottak a növényekben, mely a cianidra (CN) érzékeny citokróm oxidáz (COX) útvonallal ellentétben CN rezisztens. Később a rendszertani egységek széles tartományára kiterjesztették ezt az eredményt (Henry és Nyns, 1975).

Az AOX fehérje a légzési láncban található terminális kinon oxidáz a légzési láncban, a divas karboxilát fehérjecsald tagja. Nem rendelkezik proton pumpa aktivitással és képes az oxigént vízzé redukálni, miközben a képződő energia hő formájában szabadul fel

(Berthold et al., 2000; Berthold and Stenmark, 2003). Egy behatóan tanulmányozott és nagyon szemléletes példa az AOX működésére az *Araceae* család virágzása, például a *Sauromatum guttatum* "voodoo lily" esetében (Meeuse, 1975). A növény virágzatában hő termelődik az alternatív légzési útvonal hatására, annak érdekében, hogy a virágzás egyetlen napján a rovarokat csalogató illatanyagok könnyebben elillanjanak.

Az AOX nem gátlható nitrogén-oxiddal, aziddal, vagy szulfiddal, melyek, a CN-hoz hasonlóan a citokróm oxidáz erős inhibitorai (Azcón-Bieto et al., 1989; Huang et al., 2002). A szalicil-hidroxámsav (SHAM) és az n-propil-gallát (nPG) viszont hatékony gátlószerei az AOX-nak (Vanlerberghe et al., 1994; Yip és Vanlerberghe, 2001).

EREDET ÉS EVOLÚCIÓS TÖRTÉNET

Az AOX prokarióta eredete

1999-ben arról számoltak be, hogy az *Arabidopsis thaliana* kloroplasztisza tartalmaz egy divas karboxilát fehérjét, melynek szekvenciája hasonlít az AOX szekvenciájához (Carol et al., 1999; Wu et al., 1999). Ezt a proteint többféleképpen is nevezik: IMMUTANS (Carol et al., 1999; Wu et al., 1999), plasztid terminál oxidáz (Carol és Kuntz, 2001), plasztokion terminális oxidáz (PTOX) (McDonald et al., 2003). A két fehérje aktivitása hasonló, de míg az AOX a mitokondrium belső membránjában helyezkedik el, addig a PTOX a kloroplasztisz tilakoid membránjában található. Mindkettő képes az oxigén redukálása által a plasztokion oxidációjára (Aluru és Rodermel, 2004). McDonald és Vanlerberghe (2006) azt feltételezik, hogy az AOX és PTOX fehérjék egy közös, ősi fehérjéből, az ősi prokariótáktól származnak és az ősi fehérje diverzifikációja megelőzte az elsődleges endoszimbiózist. A hipotézis bizonyítékai a következők:

1. A divas fehérjék – melyek tagja az AOX és a PTOX – minden bizonnyal ősi eredetűek, mivel megtalálhatók az élőlények valamennyi királyságban, beleértve az Archaeobaktériumokat is, valamint előfordulnak az anaerob és az aerob szervezetek körében is (Gomes et al., 2001). A többi tagja ennek a fehérje családnak: ribonukleotid reduktázok, ferritinek, bakterioferritinek, $\Delta 9$ -deszaturázok és metán mono-oxigenázok. A szekvencia- és szerkezet-alapú elemzések azt mutatják, hogy ez a család egy nem-hem típusú divas központtal jellemezhető, melynek nagyon konzervatív vas megkötő szekvencia szakaszai (reziduukai) vannak, továbbá található benne egy szerkezetileg konzervatív, 4 hélixből álló konformáció (Gomes et al., 2001). A család különböző tagjaiban közös, hogy megtartották az oxigént vízzé redukáló képességüket annak ellenére, hogy feltételezhetően nem ez az elsődleges fiziológiai funkciójuk (Broadwater et al., 1998; Gassner és Lippard, 1999; Gomes et al., 2001). Ezen megfigyelések alapján azt feltételezték, hogy az oxigén reduktáz aktivitás ősi képessége ennek a fehérje családnak, és az ősi fehérjék működésük során eliminálhatták az oxigént az anaerob és aerob világ közti átmenet során (Gomes et al., 2001). Ez az ősi fehérje lehetett az evolúciós hajtóereje egy hatékonyabb oxidáz kialakulásának, az AOX és PTOX őse. További előnyt jelenthetett a korai oxidáz aktivitás a szulfid-gazdag világban, mivel a fehérje rezisztens lehetett a szulfidra (Azcón-Bieto et al., 1989).

2. Az aminosav azonosság a divas fehérjék közt túl alacsony ahhoz, hogy hagyományos filogenetikai elemzéseket tegyen lehetővé, így az AOX és a PTOX ennek alapján nem hasonlítható össze, azonban egy másik filogenetikai módszerrel, a konzervatív vaskötő szekvencia szakaszok segítségével egyértelműen meghatározhatók, összehasonlíthatók.

3. Korábbi munkák alapján (Stenmark és Nordlund, 2003; McDonald és Vanlerberghe, 2005) a következő fajokban: *Vibrio angustum*, *Vibrio fischeri*, *Vibrio splendidus*, *Sphingomonas* sp., *Roseovarius* sp., *Erythrobacter* sp., *Photobacterium* sp., *Photobacterium profundum*, *Psychromonas ingrahamii*, *Roseobacter denitrificans* és *Thiobacillus denitrificans* talált AOX gének

vizsgálata során nyilvánvalóvá vált, hogy az AOX elterjedt a proteobaktériumok körében. A PTOX géneket, pedig cianobaktériumok genomjában írták le (McDonald és Vanlerberghe, 2005).

4. Széles rendszertani tartományt (prokarióta és eukarióta fehérjéket) vizsgáló filogenetikai elemzések azt mutatják, hogy az AOX és a PTOX egyértelműen két külön filogenetikai csoportba sorolható. Ez összhangban van azzal a feltételezéssel, hogy az ősi fehérje szétágazása az AOX és a PTOX irányába, megelőzte az eukarióták kialakulását (McDonald és Vanlerberghe, 2006).

Endoszimbiózis és vertikális öröklődés

Azt feltételezik, hogy az AOX és a PTOX az elsődleges endoszimbiózis során jutott az eukariótákba, és ez az esemény idézte elő a mitokondrium és a kloroplasztisz kialakulását. Ezt követően a fehérjék vertikális öröklődés és bizonyos esetekben másod, illetve harmadlagos endoszimbiózis során terjedtek el az eukarióta doménban (McDonald és Vanlerberghe 2006). Az ezt alátámasztó bizonyítékok a következők:

1. A jelenleg meglévő proteobaktériumokról és cianobaktériumokról azt gondolják, hogy az ősi prokarióták leszármazottai, melyek két, egymástól elkülönült endoszimbiotikus esemény során hozták létre a mitokondriumot és a kloroplasztiszt (Prechtl és Maier, 2001). A fennmaradt prokarióta AOX fehérjék kizárólag prokariótákban vannak jelen, és az eddigi ismeretek szerint a proteobaktériumokra korlátozódnak, az eubaktériumok egyetlen csoportjában sem találhatók meg. Hasonlóképpen igaz ez a meglévő prokarióta típusú PTOX fehérjékre is, kizárólag cianobaktériumokban találhatók, nem igazolták jelenlétüket egyetlen megszekvenált fototróf baktérium genomában sem.

2. Általánosan elfogadott, hogy a mitokondriumot eredményező primer endoszimbiózis megelőzte a kloroplasztisz létrejöttét előidézőt (Prechtl és Maier, 2001). Megemlíthető néhány eukarióta leszármazási ág (amoebosoa, néhány protista, gombák, ichthyosporaeák, choanoflagelláták, és állatok), melyekről azt gondolják, hogy soha nem léptek kapcsolatba endoszimbiózis útján a kloroplasztiszok kialakulásáért felelős cianobaktériumokkal. Ezek az eukarióták („aplástidic”) rendelkeznek AOX-al, de PTOX-al nem.

3. A „plastidic” eukarióták közé sorolandók azok a csoportok, melyek evolúciós történetük során bizonyos ideig tartalmaztak kloroplasztiszt, mely elsődleges endoszimbiózis során bekebelezett cianobaktériumoktól származott (Rodríguez-Ezpeleta et al., 2005). Ez magában foglalja a Glaucocystophytákat, a „zöld” leszármazást és a „piros” leszármazást. Ellentétben az „aplástidic” leszármazással, az várható, hogy ezek az élőlények, AOX-ot és PTOX-ot egyaránt tartalmaznak. Az elsődleges plasztiszrendszerű glaucocystophytesekben és vörös algákban mindkét, a prasinophytesek (melyek a jelenlegi zöld algák és növények ősei) közé tartozó *Mesostigma viride* és *Micromonas* sp. esetében pedig a PTOX fehérje jelenlétére találtak bizonyítékot.

4. A plasztidrendszerrel rendelkező élőlények közé tartoznak azok a csoportok is, melyek feltételezhetően másodlagos, illetve harmadlagos endoszimbiózis útján szerezték plasztidjukat, tehát egy eukarióta gazdasejt

elnyelt egy zöld vagy vörös algát (Archibald, 2005). Feltételezhető, hogy ezek az élőlények rendelkeznek AOX-al és PTOX-al egyaránt. A jelenlegi zöld alga (Chlorophyta) tartalmaz AOX-ot és PTOX-ot, és az ősi zöld alga két egymástól független endoszimbiózis vonzataként eredményezte a Chlorarachniophyták és Euglenozoák kialakulását. Míg a PTOX-ot azonosították a chlorarachniophyta *Bigeloviella natans*-ban, addig az *Euglena gracilis* és *Euglena longa* AOX-al rendelkezik (Castro-Guerrero et al., 2004). A jelenlegi vörös alga *Cyanidioschyzon merolae* AOX-al és PTOX-al is rendelkezik. A következő csoportok pedig feltételezhetően tartalmazznak másodlagos vörös plasztiszokat: Cryptophyta, Ciliates, Apicomplexa, Heterokonts, Haptophyta, és Dinoflagellata. Az AOX és PTOX jelenlétére egyértelmű bizonyítékot találtak ezekben a csoportokban a Cryptophyták és Dinoflagellaták kivételével. Mindazonáltal igazolták az AOX jelenlétét a *Perkinsus marinus* esetében, mely a dinoflagellaták egy testvércsoportja (McDonald és Vanlerberghe, 2006).

HOGYAN MŰKÖDIK AZ AOX?

Az AOX egy membránhoz kapcsolt terminális kinon oxidáz, mely számos faj légzési elektrontranszport láncában megtalálható (McDonald, 2008). Működéséhez vas szükséges (Bendall és Bonner 1971; Minagawa et al., 1990). Képes kölcsönhatásba lépni az oxigénnel, a membránnal, a kinonokkal és a vassal. Ellentétben a citokróm c oxidáz útvonallal, ahol a protonpumpák a mitokondrium belső membránján keresztül grádienszt hoznak létre és ezáltal ATP képződik, az AOX számos protonpumpát elkerül (Moore és Siedow, 1991). Az alternatív útvonal a citokróm útvonalból ágazik ki az ubikinonnál, és képes az elektronokat közvetlenül az oxigénre helyezni, miközben víz keletkezik (Siedow és Moore, 1993). Az AOX működését a sejtekben a cianid jelenlétében történő folyamatos oxigénfogyasztás igazolja (Bendall és Bonner, 1971; Matsuyama és Maeda, 1995; Veiga et al., 2003).

AZ AOX FIZIOLÓGIAI FUKCIÓI

Az alternatív légzés során az energia nem raktározódik ATP formájában, tehát felvetődik a kérdés, hogy miért rendelkeznek az élőlények ezzel a pazarló légzési úttal. A témához kapcsolódó irodalmat áttekintve kiderül, hogy az AOX expressziója növekszik különböző biotikus és abiotikus stressz hatásokra (Juszczuk és Rychter, 2003; Borecky et al., 2006; Castro-Guerrero et al., 2008). Valószínűleg az AOX rugalmasságot biztosít a légzési elektrontranszportláncnak, és ezzel előnyt jelent a gyakori stressznek kitett, különösképpen a citokróm reakcióút hatékonyságát korlátozó feltételek közt élő organizmusok számára (McDonald, 2008).

Az AOX valódi szerepének meghatározása még várat magára, de léteznek különféle hipotézisek azzal kapcsolatban, hogy miért léteznek és melyek a fiziológiai funkciói.

Termogenezis

Az AOX egy bizonyított funkciója bizonyos növények termogenezis virágzása. A szent lótoszon (*Ne-*

lumbo nucifera Gaertn.) végzett vizsgálatok azt mutatták, hogy az alternatív légzési út felerősödése felelős a melegedésért a virágzás során (Watling et al., 2006). A lódög-kontyvirág (*Helicodiceros muscivorus* Engl.) esetén bebizonyosodott, hogy a termogenezis hő- és szag kibocsátást eredményez és csábítja a beporzást végző húslegyet (Angioy et al., 2004).

Szén metabolizmus

A légzési elektrontranszport lánc túlredukálódhat, amikor nagy mennyiségű szén mozog át a glikolízisen és a trikarbonsav cikluson, miközben a különböző sejtbeli folyamatok nagy mennyiségben állítanak elő redukált kofaktorokat, vagy amikor az AOX és/vagy a citokróm út nem működik (McDonald, 2008). Az AOX képes a redukált kofaktorok regenerálására, megelőzve a szén metabolizmus gátlását a citokróm útvonal gyengülése esetén (Millenaar és Lambers, 2003; Stenmark és Nordlund, 2003). A NADH visszaoxidálásának képessége nagy szerepet kap például a *Cryptosporidium parvum*-ban, mivel ez az élőlény nem rendelkezik a trikarbonsav-ciklushoz szükséges enzimekkel és a citokróm úttal (Roberts et al., 2004).

O₂ elimináció és a reaktív oxigéngyökök generálásának szabályozása

A különböző divas karboxilát fehérjék számos reakcióutat katalizálnak, azonban mindegyikükben közös, hogy képesek az O₂-t szubsztrátként használni és vízzé redukálni. Úgy vélik, az ősi divas karboxilát fehérje ezen funkciója lehetett az evolúció hajtóereje az anaerob és az aerob világ közti átmenet során, amikor a toxikus O₂ szintje növekedni kezdett (McDonald és Vanlerberghe, 2006). Az O₂ elimináció, mint elsődleges képesség megmaradhatott bizonyos élőlényekben, melyek ma is jelen vannak. Az oxigénszegény bélkörnyezetben élő *C. parvum* protista parazita számára az AOX teszi lehetővé a lokalizáltan megnövekedő oxigénszint elviselését (Putignani et al., 2004).

A felesleges O₂ veszélyes lehet, mert reaktív oxigén gyökök (ROS) képződéséhez vezethet, melyek túlzott generálása oxidatív károkat okoz a mitokondriumban. A mitokondriális elektrontranszportlánc jelentős ROS forrásnak számít, mivel a ROS képződés aránya függ a légzési komponensek redukációs állapotától. Az AOX képes a légzési elektrontranszportlánc túlredukálódását megelőzni és ezáltal csökkenteni a ROS képződés valószínűségét (Maxwell et al., 1999; Møller, 2001). Aktiválva az *Acanthamoeba castellanii* AOX-át, csökkent a H₂O₂ produkció, viszont ez a hatás gátlható volt benzohidroxammáttal, ezért azt feltételezték, hogy az AOX védte az élőlényt az oxidatív stressztől (Czarna és Jarmuszkiewicz, 2005). *Ustilago maydis* esetében CN (citokróm inhibitor) jelenlétében vizsgálták a ROS képződés növekedését. Azt tapasztalták, hogy a magasabb AOX reakcióút kapacitást mutató sejtekben alacsonyabb volt a ROS képződés mértéke, mint a kontrol sejtekben (Juárez et al., 2006). *Podospora anserina*-val kapcsolatos munkák bebizonyították, hogy az AOX expresszió fokozása az élettartam növekedéséhez vezet, valószínűleg a ROS generálás visszaszorítása miatt (Gredilla et al., 2006).

Rezisztencia fémekkel, toxinokkal és mérgekkel szemben, valamint szerepe a patogénitásban

Az AOX rezisztens több olyan vegyületre, melyek gátolják a COX-ot (komplex IV), vagy a komplex III-at. Ilyen inhibitorok a következők: szulfid (Azcón-Bieto et al., 1989), kadmium (Castro-Guerrero et al., 2008), nitrogén-oxid (NO) (Huang et al., 2002), azid (Baurain et al., 2003), antimycin A (Chae et al., 2007) és myxothiazol (Cournac et al., 2002). Ezek az inhibitorok a környezetben való bőséges jelenlétük miatt, vagy egyszerűen a normális fiziológiai funkciók termékeiként felhalmozódhatnak a szövetekben. Az AOX gyakran fordul elő szulfid gazdag környezetben, például tengeri üledékben élő organizmusok körében (Nicholls, 1975). Az AOX feltételezhetően szerepet játszik a protista *E. gracilis* fém rezisztenciájában (Castro-Guerrero et al., 2008). Habár a kadmium csökkenti a III-as és IV-es légzési komplexek aktivitását, az AOX viszonylag ellenálló ezzel a gátlással szemben (Castro-Guerrero et al., 2008). Több mint 40 patogén fajt találtak, melyek rendelkeznek AOX-al (McDonald és Vanlerberghe, 2006). Ennek magyarázata lehet, hogy a gazdaszervezetek védelmi válaszaik során gyakran termelnek ROS-t vagy mérgeket, például CN-t, így próbálva legyőzni a behatolót. Úgy vélik, hogy az AOX szerepet játszik a *Cryptococcus neoformans* patogenezisében azáltal, hogy javítja a gomba túlélését a fagocitikus gazdasejtben (Akhter et al., 2003). Az álomkórostoros (*Trypanosoma brucei brucei*) az emlősök véráramában az AOX segítségével képes a NADH-t reoxidálni és megelőzni a ROS generálást (Fang és Beattie, 2003).

A CIANID REZISZTENS LÉGZÉS SZEREPE A CITROMSAVGYÁRTÁSBAN

A citromsav a világ legnagyobb mennyiségben előállított anyaga, melynek ipari termelése elsősorban az *Aspergillus niger* nevű fonalas gombával zajlik. Kisebb mennyiségét élesztőgombával (*Yarrowia lipolytica*) is előállítják.

Magas citromsav hozam csak nagymennyiségű oxigén jelenlétében érhető el. Az oxigénszintet gyakran tartják megfelelő értéken (Clark és Lentz, 1961). Az oxigén a citromsav produkció mellett az AOX expresszióját is indukálja (Zehentgruber et al., 1980; Kirimura et al., 2000). Az alternatív légzési út során az energia nem ATP-ben raktározódik, hanem hő formájában szabadul fel. Következésképpen citromsavtermelés során a rendszer külső hűtést igényel.

A citromsavtermelés folyamatában a citokróm-függő enzimek tevékenysége csökken, ezzel párhuzamosan az AOX tevékenysége növekszik (Wallrath et al., 1991). Feltehetően az alternatív útvonal fiziológiai jelentősége a redukált kofaktorok regenerálásában keresendő. A hexóz átalakulása citromsavvá nettó 1 mol ATP és 3 mol NADH képződését eredményezi, melyek forgalmát korlátozza a megfelelő kapacitású bioszintetikus folyamatok hiánya. Ennélfogva, a sejtek nem igényelnek sok ATP-t és a váltás a citokróm-függő légzésről az alternatív módra lehetővé teszi a NADH újraoxidálását anélkül, hogy ezzel egyidejűleg ATP termelődjön (Karaffa és Kubicek, 2003). A citromsavtermelés során két kritikus pont különböztethető meg, az egyik a gliceraldehid-3-foszfát-dehidrogenáz kofaktor ellátottsága, a másik a terminális oxidáció működése, mely ATP-t termelne és ezzel allosztérikusan gátolná a fruktóz-1,6-biszfoszfát képződését (Net 1).

Az *A. niger* AOX-ot kódoló cDNS-ét, már klónozták *E. coli*-ba (Kirimura et al., 1999). Azonban még nem vizsgálták, hogy citromsavtermelés rátájára milyen hatással lehet az AOX túltermelődése. Később létrehoztak egy technikát az *aox1* expressziójának vizsgálatához. Egy *aox-egfp* fúziós gént transzformáltak *A. niger*-be. Az így létrehozott törzs az AOXEGFP-1. A beépített gén AOX enzimet kódol és felerősíti a zöld fluoreszcens proteint (EGFP). Ezáltal megvalósítható az *aox1* expressziójának vizuális analízise a micélium károsítása nélkül (Kirimura et al., 2006). Megállapították, hogy nincs olyan gén vagy régió az *A. niger* kromoszómájában, mely homológ az *aox1*-gyel (Hattori et al., 2009).

IRODALOM

- Akhter, S.–McDade, H. C.–Gorlach, J. M.–Heinrich, G.–Cox, G. M.–Perfect, J. R. (2003): Role of alternative oxidase gene in pathogenesis of *Cryptococcus neoformans*. *Infection and Immunity*. 71: 5794–5802.
- Aluru, M. R.–Rödermel, S. R. (2004): Control of chloroplast redox by the IMMUTANS terminal oxidase. *Physiologia Plantarum*. 120: 4–11.
- Angioy, A. M.–Stensmyr, M. C.–Urru, I.–Puliafito, M.–Collu, I.–Hansson, B. S. (2004): Function of the heater: the dead horse arum revisited. *Proceedings. Biological Sciences. The Royal Society* 271. Supplements. S13-S15.
- Archibald, J. M. (2005): Jumping genes and shrinking genomes – probing the evolution of eukaryotic photosynthesis with genomics. *IUBMB Life*. 57: 539–547.
- Azcón-Bieto, J.–Ribas-Carbó, M.–González-Meler, M.–Peñuelas, J. (1989): Sulfide resistant respiration in leaves of *Elodea canadensis Michx*: comparison with cyanide-resistant respiration. *Plant Physiology*. 90: 1249–1251.
- Baurain, D.–Dinant, M.–Coosemans, N.–Matagne, R. F. (2003): Regulation of the alternative oxidase *Aox1* gene in *Chlamydomonas reinhardtii*. Role of the nitrogen source on the expression of a reporter gene under the control of the *Aox1* promoter. *Plant Physiology*. 131: 1418–1430.
- Bendall, D. S.–Bonner, W. D. (1971): Cyanide-insensitive respiration in plant mitochondria. *Plant Physiology*. 47: 236–245.
- Berthold, D. A.–Stenmark, P. (2003): Membrane-bound diiron carboxylate proteins. *Annual Review of Plant Biology*. 54: 497–517.
- Berthold, D.–Andersson, M. E.–Nordlund, P. (2000): New insight into the structure and function of the alternative oxidase. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1460: 241–254.

- Borecky, J.–Nogueira, F.T.–de Oliveira, K.A.–Maia, I.G.–Vercesi, A.E.–Arruda, P. (2006): The plant energy-dissipating mitochondrial systems: depicting the genomic structure and the expression profiles of the gene families of uncoupling protein and alternative oxidase in monocots and dicots. *Journal of Experimental Botany*. 57: 849–864.
- Broadwater, J. A.–Ai, J.–Loehr, T. M.–Sanders-Loehr, J.–Fox, B. G. (1998): Peroxidiferic intermediate of stearyl-acyl carrier protein $\Delta 9$ desaturase: oxidase reactivity during single turnover and implications for the mechanism of desaturation. *Biochemistry*. 37: 14664–14671.
- Carol, P.–Kuntz, M. (2001): A plastid terminal oxidase comes to light: implications for carotenoid biosynthesis and chlororespiration. *Trends Plant Science*. 6: 31–36.
- Carol, P.–Stevenson, D.–Bisanz, C.–Breitenbach, J.–Sandmann, G.–Mache, R.–Coupland, G.–Kuntz, M. (1999): Mutations in the Arabidopsis gene IMMUTANS cause a variegated phenotype by inactivating a chloroplast terminal oxidase associated with phytoene desaturation. *Plant Cell*. 11: 57–68.
- Castro-Guerrero, N. A.–Krab, K.–Moreno-Sanchez, R. (2004): The alternative respiratory pathway of Euglena mitochondria. *J. Bioenergetics Biomembranes*. 36: 459–469.
- Castro-Guerrero, N. A.–Rodríguez-Zavala, J. S.–Marín-Hernández, A.–Rodríguez-Enriquez, S.–Moreno-Sánchez, R. (2008): Enhanced alternative oxidase and antioxidant enzymes under Cd²⁺ stress in Euglena. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*. (In press)
- Chae, M. S.–Lin, C. C.–Kessler, K. E.–Nargang, C. E.–Tanton, L. L.–Hahn, L. B.–Nargang, F. E. (2007): Identification of an alternative oxidase induction motif in the promoter region of the aod-1 gene in *Neurospora crassa*. *Genetics*. 175: 1597–1606.
- Clark, D. S.–Lentz, C. P. (1961): Submerged citric acid fermentation on beet molasses: effect of pressure and recirculation of oxygen. *Canadian Journal of Microbiology*. 7: 447–452.
- Cournac, L.–Latouche, G.–Cerovic, Z.–Redding, K.–Ravenel, J.–Peltier, G. (2002): In vivo interactions between photosynthesis, mitorespiration, and chlororespiration in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiology*. 129: 1921–1928.
- Czarna, M.–Jarmuszkiewicz, W. (2005): Activation of alternative oxidase and uncoupling protein lowers hydrogen peroxide formation in amoeba *Acanthamoeba castellanii* mitochondria. *FEBS Letters*. 579: 3136–3140.
- Fang, J.–Beattie, D. S. (2003): Alternative oxidase present in procyclic *Trypanosoma brucei* may act to lower the mitochondrial production of superoxide. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 414: 294–302.
- Gassner, G. T.–Lippard, S. J. (1999): Component interactions in the soluble methane monooxygenase system from *Methylococcus capsulatus* (Bath). *Biochemistry*. 37: 12768–12785.
- Gomes, C. M.–Le Gall, J.–Xavier, A. V.–Teixeira, M. (2001): Could a diiron-containing four-helix-bundle protein have been a primitive oxygen reductase? *ChemBioChem*. 2: 583–587.
- Gredilla, R.–Grief, J.–Osiewacz, H. D. (2006): Mitochondrial free radical generation and lifespan control in the fungal aging model *Podospora anserina*. *Experimental Gerontology*. 41: 439–447.
- Hattori, T.–Kino, K.–Kirimura, K. (2009): Regulation of alternative oxidase at the transcription stage in *Aspergillus niger* under the conditions of citric acid production. *Current Microbiology*. 58: 321–325.
- Henry, M. F.–Nyns, E. J. (1975): Cyanide-insensitive respiration. An alternative mitochondrial pathway. *Sub-Cellular Biochemistry*. 4: 1–65.
- Huang, X.–von Rad, U.–Durner, J. (2002): Nitric oxide induces transcriptional activation of the nitric oxide-tolerant alternative oxidase in Arabidopsis suspension cells. *Planta*. 215: 914–923.
- Juárez, O.–Guerra, G.–Velázquez, I.–Flores-Herrera, O.–Rivera-Pérez, R. E.–Pardo, J. P. (2006): The physiologic role of alternative oxidase in *Ustilago maydis*. *The FEBS Journal*. 273: 4603–4615.
- Juszczak, I. M.–Rychter, A. M. (2003): Alternative oxidase in higher plants. *Acta Biochimica Polonica*. 50: 1257–1271.
- Karaffa, L.–Kubicek, C. P. (2003): *Aspergillus niger* citric acid accumulation: do we understand this well working black box? *Applied Microbiology and Biotechnology*. 61: 189–196.
- Kirimura, K.–Ogawa, S.–Hattori, T.–Kino, K. (2006): Expression analysis of alternative oxidase gene (*aox1*) with enhanced green fluorescent protein as a marker in citric acid-producing *Aspergillus niger*. *J. Bioscience and Bioengineering*. 102: 210–214.
- Kirimura, K.–Yoda, M.–Shimizu, H.–Sugano, S.–Mizuno, M.–Kino, K.–Usami, S. (2000): Contribution of cyanide-insensitive respiratory pathway, catalyzed by the alternative oxidase, to citric acid production in *Aspergillus niger*. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 64: 2034–2039.
- Kirimura, K.–Yoda, M.–Usami, S. (1999): Cloning and expression of the cDNA encoding an alternative oxidase gene from *Aspergillus niger* WU-2223L. *Current Genetics*. 34: 472–477.
- Matsuyama, S. I.–Maeda, Y. (1995): Involvement of cyanide-resistant respiration in cell-type proportioning during *Dictyostelium* development. *Developmental Biology*. 172: 182–191.
- Maxwell, D. P.–Wang, Y.–McIntosh, L. (1999): The alternative oxidase lowers mitochondrial reactive oxygen production in plant cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 96: 8271–8276.
- McDonald, A. E. (2008): Alternative oxidase: an inter-kingdom perspective on the function and regulation of this broadly distributed ‘cyanide-resistant’ terminal oxidase. *Functional Plant Biology*. 35: 535–552.
- McDonald, A. E.–Amirsadeghi, S.–Vanlerberghe, G. C. (2003): Prokaryotic orthologues of mitochondrial alternative oxidase and plastid terminal oxidase. *Plant Molecular Biology*. 53: 865–876.
- McDonald, A. E.–Vanlerberghe, G. C. (2005): Alternative oxidase and plastoquinol terminal oxidase in marine prokaryotes of the Sargasso Sea. *Gene*. 349: 15–24.
- McDonald, A. E.–Vanlerberghe, G. C. (2006): Origins, evolutionary history, and taxonomic distribution of alternative oxidase and plastoquinol terminal oxidase. *Comparative Biochemistry and Physiology*. D1: 357–364.
- Meeuse, B. J. D. (1975): Thermogenic respiration in aroids. *Annual Review of Plant Physiology*. 26: 117–126.
- Millenaar, F. F.–Lambers, H. (2003): The alternative oxidase: in vivo regulation and function. *Plant Biology*. 5: 2–15.
- Minagawa, N.–Sakajo, S.–Komiya, T.–Yoshimoto, A. (1990): Essential role of ferrous iron in cyanide-resistant respiration in *Hansenula anomala*. *FEBS Letters*. 267: 114–116.
- Møller, I. M. (2001): Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species. *Annual Review of Plant Physiology*. 52: 561–591.
- Moore, A. L.–Siedow, J. N. (1991): The regulation and nature of the cyanide-resistant alternative oxidase of plant mitochondria. *Biochim Biophys Acta*. 1059: 121–140.
- Net 1: Szentirmai Attila: Alkalmazásra került fontosabb mikrobiológiai eljárások. (2012): <http://web.unideb.hu/~szentirmai/IPARIMIKROBIOLOGIA-II-III.pdf>

- Nicholls, P. (1975): The effect of sulfide on cytochrome aa₃. Isosteric and allosteric shifts of the reduced a-peak. *Biochimica et Biophysica Acta*. 396: 24–35.
- Prechtel, J.–Maier, U. G. (2001): Zoology meets Botany: establishing intracellular organelles by endosymbiosis. *Zoology*. 104: 284–289.
- Putignani, L.–Tait, A.–Smith, H. V.–Horner, D.–Tovar, J.–Tetley, L.–Wastling, J. M. (2004): Characterization of a mitochondrion-like organelle in *Cryptosporidium parvum*. *Parasitology*. 129: 1–18.
- Roberts, C. W.–Roberts, F.–Henriquez, F. L.–Akiyoshi, D.–Samuel, B. U. (2004): Evidence for mitochondrial-derived alternative oxidase in the apicomplexan parasite *Cryptosporidium parvum*: a potential antimicrobial agent target. *International Journal for Parasitology*. 34: 297–308.
- Rodríguez-Ezpeleta, N.–Brinkmann, H.–Burey, S. C.–Roure, B.–Burger, G.–Löffelhardt, W.–Bohnert, H. J.–Philippe, H.–Lang, B. F. (2005): Monophyly of primary photosynthetic eukaryotes: green plants, red algae, and Glaucophytes. *Current Biology*. 15: 1325–1330.
- Siedow, J. N.–Moore, A. L. (1993): A kinetic model for the regulation of electron transfer through the cyanide-resistant pathway in plant mitochondria. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1142: 165–174.
- Stenmark, P.–Nordlund, P. (2003): A prokaryotic alternative oxidase present in the bacterium *Novosphingobium aromaticivorans*. *FEBS Letters*. 552: 189–192.
- Vanlerberghe, G. C.–Vanlerberghe, A. E.–McIntosh, L. (1994): Molecular genetic alteration of plant respiration (silencing and overexpression of alternative oxidase in transgenic tobacco). *Plant Physiology*. 106: 1503–1510.
- Veiga, A.–Arrabaca, J. D.–Loureiro-Dias, M. C. (2003): Cyanide-resistant respiration, a very frequent metabolic pathway in yeasts. *FEMS Yeast Research*. 3: 239–245.
- Wallrath, J.–Schmidt, M.–Weiss, H. (1991): Concomitant loss of respiratory chain NADH:ubiquinone reductase (complex I) and citric acid accumulation in *Aspergillus niger*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 36: 76–81.
- Watling, J. R.–Robinson, S. A.–Seymour, R. S. (2006): Contribution of the alternative pathway to respiration during thermogenesis in flowers of the sacred lotus. *Plant Physiology* 140: 1367–1373.
- Wu, D.–Wright, D. A.–Wetzel, C.–Voytas, D. F.–Rodermeier, S. R. (1999): The IMMUTANS variegation locus of *Arabidopsis* defines a mitochondrial alternative oxidase homolog that functions during early chloroplast biogenesis. *Plant Cell*. 11: 43–55.
- Yip, J. Y.–Vanlerberghe, G. C. (2001): Mitochondrial alternative oxidase acts to dampen the generation of active oxygen species during a period of rapid respiration induced to support a high rate of nutrient uptake. *Physiologia Plantarum*. 112: 327–333.
- Zehentgruber, O.–Kubicek, C. P.–Röhr, M. (1980): Alternative respiration of *Aspergillus niger*. *FEMS Microbiology Letters*. 8: 71–75.