



**Kigyó-adeno- és parvovírus teljes genomjának szekvenciája és
analízise, mindkét víruscsoportban az első molekuláris elemzések
hüllő-eredetű izolátummal**

PhD értekezés tézisei

Készítette:

dr. Farkas Szilvia

2005

Szent István Egyetem
Állatorvos-tudományi Doktori Iskola

Témavezető és témabizottsági tagok:

.....
Dr. Benkő Mária
MTA Állatorvos-tudományi Kutatóintézete

Dr. Harrach Balázs
MTA Állatorvos-tudományi Kutatóintézete

Dr. Lomniczi Béla
MTA Állatorvos-tudományi Kutatóintézete

Készült 8 példányban. Ez az 1. sz. példány.

.....
dr. Farkas Szilvia

Előzmények, célkitűzések

Kutatómunkám kezdetekor az *Adenoviridae* család rendszertani beosztása gyökeres változtatások előtt állt. Az adenovírusokból meghatározott teljes, illetve részleges genom szekvenciák alapján végzett filogenetikai elemzések rohamosan növekvő mennyisége egyre meggyőzőbb bizonyítékokat szolgáltatott arra vonatkozóan, hogy a közel 30 éve kialakított két nemzetség (*Mastadenovirus* és *Aviadenovirus*) kivételnek számító tagjait új nemzetségekbe lehet és kell besorolni.

A különböző gének összehasonlítására alapozott adenovírus törzsfá rekonstrukciók kezdetben egyértelműen három csoport elkülönülését mutatták. Később világossá vált, hogy a három leszármazási vonal háromféle jellegzetes genom szerveződésnek felel meg. Javaslat született a Nemzetközi Vírusrendszertani Bizottság (ICTV, International Committee on the Taxonomy of Viruses) számára, hogy a *Mastadenovirus* nemzetségben található, elsősorban szarvasmarhából származó kivételek új nemzetségbe kerüljenek az egyik rendhagyó madár-adenovírussal, az EDS-vírussal együtt (egg drop syndrome), ami korábban az aviadenovírusok ún. III. csoportját alkotta. Az újonnan kialakítandó nemzetségnek vegyes gazdaeredete miatt az *Atadenovirus* elnevezést ajánlották, mivel valamennyi ismert tagjában igen alacsonynak találták a genom G+C arányát.

A gazdafajok és adenovirusaik filogenetikai összehasonlítása alapján merész hipotézis született. Az atadenovírusok viszonylagos filogenetikai távolsága az avi- és mastadenovírusokhoz képest hozzávetőlegesen megfelelt a melegvérű és változó testhőmérsékletű gerincesek relatív filogenetikai távolságának. A hasonló arányok alapján elképzelhetőnek tűnt, hogy az atadenovírusok ősbibb gerincesekkel fejlődtek együtt, és a napjainkban kérődzőkben, erszényesben és madárban előforduló törzsek esetleg gazdaváltás révén kerültek mai gazdáikba. A hipotézis vizsgálatához halakból, kétélűtükből és hullókból származó adenovírus izolátumok beszerzésére és vizsgálatára volt szükség.

Az egyetlen létező béka-adenovírus izolátum genom-szintű vizsgálata kiderítette, hogy az *Aviadenovirus* genusban II. csoportként elkülönített, pulykák vérzéses bélgyulladását okozó THEV-vel (turkey haemorrhagic enteritis virus) egy negyedik csoportot képez. Filogenetikai elkülönültségük és sajátos szerveződésű, szialidáz

enzimekével homológ gént tartalmazó genomjuk alapján e két vírus számára egy negyedik nemzetség létrehozását javasolták *Stadenovirus* néven.

Az atadenovírusok eredete után nyomozva határoztuk el hüllőkből származó adenovírusok beszerzését és genetikai vizsgálatát. Célul tűztük ki a német kollégák által rendelkezésünkre bocsátott, gabonasiklókból (*Elaphe guttata*) származó adenovírus törzs teljes genomjának klónozását, DNS szekvenciájának meghatározását, és elemzését. A királypythonból (*Python regius*) izolált adenovírus szekvenálása során azonosítottunk egy olyan klónt, ami a filogenetikai elemzés alapján új parvovírusnak tűnt, ezért érdekes kutatási feladatnak ígérkezett a python-eredetű parvovírus genom-szintű vizsgálata is.

Anyag és módszer

A vírus-DNS tisztítása

A gabonasiklókból (*Elaphe guttata*) származó 145/88-as számú adenovírust, valamint a királypythonból (*Python regius*) származó 91/88-as és a közönséges óriáskígyóból (*Boa constrictor*) származó 183b/88-as számú, adenovírust és parvovírust is tartalmazó, kevert izolátumokat viperaszív (VH-2; ATCC CCL 140) és leguánszív (IgH2; ATCC CCL 108) sejtvonalon, Németországban elszaporították, majd ultracentrifugálással koncentrálták. Az ultracentrifugált mintákat proteináz K enzim jelenlétében inkubáltuk, a szennyező anyagokat fenolos kezeléssel távolítottuk el, majd a vírus-DNS-t etanollal kicsaptuk.

A 91/88-as számú izolátumból célzottan a parvovírus-DNS-t tisztítottuk. Ekkor a fenolos kivonást megelőzően nátrium-kloridot adtunk a mintához, ami elősegítette az egymással komplementer pozitív és negatív DNS-szálak összetapadását.

A kígyó-adenovírus molekuláris klónozása

Mivel a DNS mennyisége nem volt elegendő fizikai térkép elkészítéséhez, véletlenszerű klónozást végeztünk. Kezdetben a *Pst*I fragmentumokat tartalmazó klónok kétoldali szekvenálásával próbáltuk azok genombeli elhelyezkedését meghatározni, majd a *Pst*I klónok által le nem fedett területet *Sma*I klónok, illetve polimeráz láncreakció (PCR) segítségével vizsgáltuk.

A kigyó-parvovírus klónozása és az ITR szekvenálása

A királypítóból származó adenovírus izolátum *PstI* restrikciós enzimmel végzett véletlenszerű klónozása során a kísérőként jelen levő parvovírus genomjának középső részét tartalmazó klónt nyertünk. A hiányzó 3' és 5' véget *PstI* és *EcoRV* enzim segítségével klónoztuk. Teljes genomot tartalmazó, infekzív klón létrehozása céljából, a 3 parvovírus-DNS fragmentumot megfelelő irányultságban összeépítettük a pBluescript II KS plazmidba.

A genom két végén található ITR (fordított vég-ismétlődés) másodlagos szerkezete lehetővé tette a szekvenálást. A másodlagos szerkezet megszüntetéséhez DN-ázos kezelést, ezt követően *Eco0109I* restrikciós enzimmel végzett részleges emésztést végeztünk.

DNS szekvenálás és szekvenálás elemzés

A tisztított plazmid-DNS-t, illetve PCR terméket mindkét irányból szekvenáltuk. A szekvenálási reakciót BigDye Terminator V3.1. Cycle Sequencing (ABI) készlettel végeztük és ABI 3100 kapilláris szekvenálón futtattuk. Más esetekben a reakciót SequiThermTM Excel II, Long-readTM KIT-ALFTM készlet (Epicentre Technologies), az elektroforézist pedig ALFTM Express (Pharmacia) használatával hajtottuk végre. PCR termékek közvetlen szekvenálásához a Szegedi Biológiai Központ szolgáltatását vettük igénybe. A szekvenációk elemzése a Lasergene programokkal történt (DNASTAR Inc.). A fehérjéket kódoló gének azonosítása a GenBank (NCBI) és a saját adenovírus adatbázissal szemben futó BLASTX homológia kereső programokkal történt. Feltételezett splicing esetén az akceptor és donor helyek megállapítása a NNSPLICE 0.9 program segítségével történt.

Filogenetikai számítások

A homológ szekvenációk illesztése a MultAlin programmal történt. Az illesztések szerkesztéséhez a GeneDoc programot használtuk.

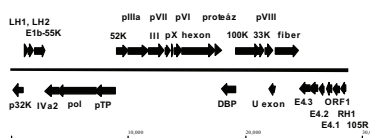
Filogenetikai számításokhoz a PHYLIP programcsomagot használtuk (PHYLIP v3.5c <http://evolution.genetics.washington.edu/phylip.html>). A vírusok közötti evolúciós kapcsolatot a nukleotid és aminosav szekvenációk illesztések parsimónia (DNAPARS;

PROTPARS) és távolsági mátrix (DNADIST; PROTDIST) analizisével vizsgáltuk. A távolsági mátrixokból a fákat a legtöbbször FITCH program segítségével állítottuk elő. Az így kapott fa topológiájának valószínűségét valamennyi módszer esetén bootstrap elemzéssel teszteltük (SEQBOOT) Ilyenkor a legvalószínűbb fát és a bootstrap értékeket a CONSENSE program segítségével számítottuk ki. A fákat a TreeView 1.5.2 program segítségével jelenítettük meg.

Eredmények

A kígyó-adenovírus

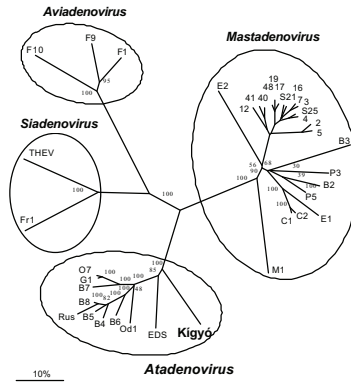
A kígyó-adenovírus (SnAdV-1) genom minden szakaszán legalább két független reakció során határoztuk meg a nukleotid sorrendet. A genom mérete 27751 bázispárnak bizonyult, G+C tartalmát az egész genomra vonatkoztatva 50,21%-nak találtuk. Összesen 27 nyitott leolvasási keretet (ORF) valószínűsítettünk szekvencia elemzéssel és homológia kereséssel (1. ábra).



1. ábra. A kígyó-adenovírus genomszerveződése.

Az adenovírusokra jellemzően az E1A helyén, de az ellentétes szálon a p32K szerkezeti fehérje génjének feltételezett homológját azonosítottuk. Homológia kereséssel az V-ös és a IX-es szerkezeti fehérjéket kódoló gének, illetve az E1A és E3 régiók megfelelőit nem lehetett azonosítani, ezek hiányoznak a genomból. A főemlősök mastadenovirusaiban leírt (a pTP és 52K fehérjéket kódoló gének között helyeződő) VA RNS-t kódoló szekvenciák sem találhatóak meg a SnAdV-1 genomban. A genom jobb végén az E4 régióban két olyan ORF-et azonosítottunk (ORF-1, 105R), melyek csak a SnAdV-1-ben fordulnak elő.

Az 2. ábrán az adenovírusok hexon fehérje szekvenciáján alapuló filogenetikai elemzés látható. Megfigyelhető, hogy az adenovírusok négy csoportja jól elkülönül. A SnAdV-1 az *Atadenovirus* nemzetség tagjaival került egy csoportba, és első leágazásként annak legősibb képviselőjének látszik.

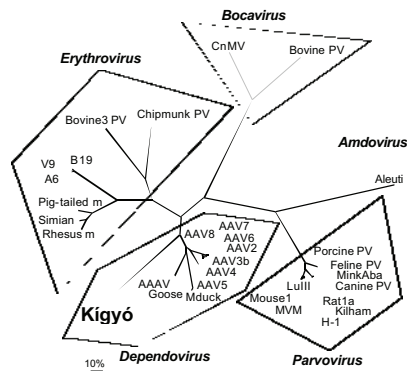


2. ábra. A adenovírusok hexon fehérjéjének aminosav illesztésén alapuló, gyökértelen filogenetikai fa.

A kígyó-parvovírus

A királypítontól izolált parvovírus (serpentine adeno-associated virus; SAAV) teljes genomját klónoztuk és szekvenáltuk. A SAAV genomja 4432 nukleotid méretűnek bizonyult, mindkét végén rövid ITR szekvencia található. Az ITR-ek első 122 nukleotidja Y alakú hajtút képez. Az Y két ágának szekvenciája eltérő.

A pozitív szálon két ORF-et azonosítottunk, melyek feltételezhetően a nem-szerkezeti (REP1, REP2) és a kapszid (VP1, VP2, VP3) fehérjéket kódolják. A genomban három feltételezett promóter régió található, ezekről íródnak át alternatív splicing-gal a REP (p5, p19) és VP (p40) gének. A SAAV genom-szerveződése a dependovírusokéval megegyezőnek bizonyult.



3. ábra. A nem-szerkezeti fehérjék aminosav illesztésén alapuló, gyökértelen filogenetikai fa.

A nem-szerkezeti fehérjék filogenetikai elemzésének eredménye a 3. ábrán látható. A *Parvovirinae* alcsaládon belül öt egymástól jól elkülönülő csoportot kaptunk, és a SAAV a madarak parvovirusaival és a főemlősök adeno-asszociált vírusaival került egy csoportba.

Következtetések

A SnAdV-1 genomszerveződésének jellegzetességei megegyeznek az *Atadenovirus* nemzetség többi ismert tagjánál megfigyelve. Ezek közül legfontosabb a genom bal oldalán található p32K, valamint az LH1 és LH2 gének jelenléte. A genom középső része megőrzött, az egyes nemzetségek között is kevés eltérés figyelhető meg. A genom jobb végén, az E4 régióban az atadenovírusokra jellemző, megduplázódott 34K gént és egy RH gént találtunk. Az RH gének száma a többi atadenovírusban 2-5, melyek génduplikáció eredményeként jöttek létre. Mindössze két olyan ORF-et találtunk, amelyeknek az eddig ismert atadenovírusokban nincs homológja. Ezek egyike (ORF1) a génbankban eddig elhelyezett szekvenciák közül egyetlennel sem mutatott hasonlóságot.

A másik ORF homológia érdekes módon a mókuscickány adenovírusában előforduló 105R gén.

A genomterkép azonossága mellett a filogenetikai vizsgálatok is egyértelműen bizonyították, hogy a SnAdV-1 az atadenovírusok csoportjába tartozik, és feltehetően annak eddig ismert legősibb képviselője.

E vírusok közös eredetét további bizonyítékok, az ún. „shared derived” tulajdonságok is megerősítik. Ezek közé sorolhatjuk a hexon gén vége és a proteáz gén eleje közötti 4 nukleotid átfedést, amelyhez hasonló más nemzetségbeli adenovírusnál nem fordul elő, viszont valamennyi atadenovírusban megfigyelhető. Megemlíthető továbbá a vírus által kódolt proteáz enzim proteolitikus felismerési helyeinek megőrzöttsége a prekursor fehérjék aminosav szekvenciájában. Míg a mastadeno- és aviadenovírusokban I-es típusú (M/L/I)XGG'X és II-es típusú (M/L/I)XGX'G proteolitikus felismerési helyek találhatóak a pVII fehérjében, az atadenovírusokban II-es és III-as típusú, azaz (M/L/I)XAX'G proteolitikus felismerési helyet azonosítottuk.

A SnAdV-1 genom G+C tartalma meglepő módon kiegyensúlyozottnak (~50%) bizonyult. Legújabbban Wellehan és mtsai (2004) különféle vadon élő és tenyésztett gyíkokból PCR segítségével adenovírusok jelenlétét mutatták ki. A vizsgált mintákból felerősített és szekvenált DNS-polimeráz génszakaszok alapján végzett filogenetikai számítások szerint ezek is atadenovírusoknak bizonyultak, de G+C tartalmuk szintén kiegyensúlyozott.

Mivel minden eddig vizsgált hulló-adenovírus atadenovírusnak bizonyult, egyre valószínűbbnek látszik a feltételezés, miszerint az atadenovírusok hulló-eredetűek, és csak aránylag későn kerültek gazdaváltással kérődzőkre, madárra és erszényes emlősre. Érdekes ellentmondás van azonban a hullókben talált, valamint a feltételezéseink szerint gazdaváltáson átesett atadenovírusok bázis-összetétele között. Úgy tűnik, hogy az új gazdában (madár, kérődző, erszényes) erős szelekciós nyomás hatására a genom G+C tartalma jelentős mértékben csökkent (Benkő és Harrach, 2003). A szelekció elképzelhető okai között szerepelhet a gazdafajokhoz való jobb alkalmazkodás, az azokban lévő mastadeno-, illetve aviadenovírusokkal való verseny, vagy az immunrendszer elkerülése. A gazda immunrendszerével a legtöbb adenovírus igen bonyolult kölcsönhatásban van, amelynek eredményeként gyakori a tünetmentes, perzisztens fertőzés. Így a gazdaváltás valószínűségét erősíti az a tény is, hogy számos

atadenovírus erősen patogén, és súlyos megbetegedést, illetve elhullással is járó járványt okozhat.

A SAAV genomszerveződése és génjeinek filogenetikai elemzése alapján a legnagyobb hasonlóságot az adeno-asszociált vírusokkal mutatta. Létrehoztunk egy, a SAAV teljes genomját tartalmazó pBluescript II KS plazmidot, mely alapja lehet később előállítandó (pl. humán gyógyászati célú) rekombináns vírusoknak is. Ezt a klónt „know-how”-ként értékesítettük is.

Mind a SnAdV-1, mind a SAAV elemzésének vannak következményei a rendszertanra vonatkozóan. Korábban a taxonok elnevezése a biológiai tulajdonságokon alapult (pl. gazdafaj vagy szaporodóképesség). A besorolási kritériumok között napjainkban egyre nagyobb jelentőségre tesz szert a vírusok genomszerveződése, illetve a vírusok közötti filogenetikai viszonyok. Az általunk vizsgált két vírus taxonómiai besorolása is ezek alapján történt. A végső cél olyan rendszertan kialakítása, ami az evolúciós viszonyokat is a legjobban tükrözi. Az atadenovírusok nevüket az elsőként vizsgált genomok magas A+T (57-66%) tartalmáról kapták. Ez az elnevezés ma már nem teljesen helytálló, mivel az eddig megismert hüllő-adenovírusok bázis-összetétele kiegyensúlyozottnak mondható (~50% A+T tartalom), azonban a hüllő-adenovírus elnevezés sem lenne sokkal szerencsésebb. A *Dependovirus* nemzetség elnevezése sem pontosan fedi az odatarozó vírusok jellegzetességeit, mivel genomszerveződésük alapján ma már az önálló szaporodásra képes vízimadár-parvovírusokat is ebbe a nemzetségbe sorolták.

A kedvtelésből tartott állatok között az utóbbi időben a hüllők világszerte növekvő népszerűsége tesz szert, megjelentek az állatorvosi praxisban, így betegségeik és kórokozóik vizsgálata is egyre fontosabbá válik. A tendencia hazánkban is megfigyelhető. A szakirodalom adatai szerint a hüllőkben a vírusos fertőzöttség nem ritka, azonban a különféle vírusok előfordulására vonatkozóan főként csak kórszövettani, illetve elektron-mikroszkópos vizsgálatok eredményeire alapozott megfigyeléseket találunk. A modern diagnosztikai eljárások elsősorban a vírus-eredetű nukleinsav kimutatását, illetve szekvencia-elemzését foglalják magukba. Az egyes hüllő-megbetegedések vírusos oktatára vonatkozó kutatások csupán az utóbbi néhány évben

gyorsultak fel, ezért csak néhány vírusból állnak rendelkezésre részleges vagy teljes genom szekvencia adatok, melyek segítségével PCR módszerek dolgozhatók ki. Kutatásaim eredményei tehát a gyakorlat számára is hasznosítható adatokat szolgáltatnak.

Új eredmények és megállapítások

1. A világon elsőként határoztuk meg egy hullóból izolált adenovírus, a SnAdV-1 teljes nukleotid sorrendjét, azonosítottuk lehetséges fehérjét kódoló szakaszait.
2. Megállapítottuk, hogy a SnAdV-1 genom szerveződése az adenovírusok jellegzetességeit mutatja és a filogenetikai számítások során minden esetben az adenovírusokkal került egy csoportba. Így tovább valószínűsítettük azt a feltevélezt, hogy az adenovírusok közvetlen ősei a hullók adenovírusai lehettek.
3. Egy mindeddig ismeretlen ORF jelenlétét mutattuk ki a SnAdV-1-ben, valamint megtaláltuk egy nemrégiben leírt, egyelőre ismeretlen funkciójú fehérje (105R) génjének homológját, amelynek előfordulását előtünk csak a mókuscickány (*Tupaia* sp.) adenovírusában írták le.
4. Új módszert dolgoztunk ki a parvovírus ITR szekvenálására.
5. Meghatároztuk a SnAdV-1-et is tartalmazó izolátumban jelen levő kígyó-parvovírus (SAAV) teljes nukleotid sorrendjét. Azonosítottuk a SAAV feltételezett szerkezeti és nem-szerkezeti fehérjéit kódoló szakaszait. Megállapítottuk, hogy genom szerveződése a dependovírusok jellegzetességeit mutatja.
6. Filogenetikai számításokkal a SAAV minden esetben a dependovírusokkal került egy csoportba.
7. A SAAV genomját egész darabban molekulárisan klónoztuk. Ez a feltehetően infektív klón további vizsgálatokban alkalmas lehet annak meghatározására, hogy a SAAV önálló replikációra képes-e, vagy helper-vírust (adeno- vagy herpeszvírust) igényel.

Publikációs lista

Referált cikk:

Szilvia L. Farkas, Mária Benkő, Péter Élő, Krisztina Ursu, Ádám Dán, Winfried Ahne, Balázs Harrach (2002): Genomic and phylogenetic analyses of an adenovirus isolated from a corn snake (*Elaphe guttata*) imply common origin with the members of the proposed new genus *Atadenovirus*. *Journal of General Virology* 83 (10): 2403-2410. (IF 3,300)

Péter Élő, **Szilvia L. Farkas**, Ádám Dán, Gábor M. Kovács (2003): The p32K structural protein of the atadenovirus might have bacterial relatives. *Journal of Molecular Evolution* 56 (2): 175-180. (IF 3,041)

Szilvia L. Farkas, Zoltán Zádori, Mária Benkő, Sandra Essbauer, Balázs Harrach, Peter Tijssen (2004): A parvovirus isolated from royal python (*Python regius*) is a member of the *Dependovirus* genus. *Journal of General Virology* 85 (3): 555-561. (IF 3,300)

Farkas L. Szilvia (2004): Hüllök adenovirusai. *Magyar Állatorvosok Lapja* 126(4), 212-216. (IF: 0,051)

Könyvfejezet:

Farkas L. Szilvia (2005): Virologiai vizsgálat. In: *Hüllök tartása, takarmányozása és egészségvédelme*. Szerk.: Gál J. Affarone Kiadó, Budapest.

Proceeding:

Balázs Harrach, Gábor M. Kovács, **Szilvia L. Farkas**, Péter Élő, Orsolya Angyal, Andrew J. Davison, Alexander N. Zakhartchouk, Alistair Kidd, Mária Benkő: Molecular evolution of adenoviruses. Proceedings of the 6th International Congress of Veterinary Virology, Saint Malo, Franciaország, 2003. aug. 24-27., p160. (előadás)

Szilvia L. Farkas, Zoltán Zádori, Mária Benkő, Balázs Harrach, Sandra Essbauer, Peter Tijssen: Analysis of the complete nucleotide sequence of a parvovirus isolated from royal python. Proceedings of the 6th International Congress of Veterinary Virology, Saint Malo, Franciaország, 2003. aug. 24-27., p88. (poszter)

Folyóiratban megjelent absztrakt:

Szilvia L. Farkas, Mária Benkő, Winfried Ahne, Balázs Harrach (2003): A snake adenovirus surprisingly seems to be a close relative of adenoviruses based on its genome organisation and partial DNA sequence. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 50 (2-3): 247.

Péter Élő, **Szilvia L. Farkas**, Ádám Dán, Mária Benkő (2003): The p3K structural protein of adenoviruses. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 50 (2-3): 281-282.

Egyéb absztrakt:

Farkas L. Szilvia, Benkő Mária, Ahne Winfried, Harrach Balázs: Egy kígyó-adenovírus meglepő módon az adenovírusok közeli rokonának mutatkozik genom-szerveződése és részleges DNS-szekvenciája alapján. *Akadémiai Beszámoló* 28, 2002. jan. 22., p2. (előadás)

Szilvia L. Farkas, Mária Benkő, Winfried Ahne, Balázs Harrach: A snake adenovirus surprisingly seems to be a close relative of adenoviruses based on its genome organisation and partial DNA sequence. 12th International Congress of Microbiology, Párizs, Franciaország, 2002. júl. 27-aug 1. (poszter)

Balázs Harrach, **Szilvia L. Farkas**, Gábor M. Kovács, Scott E. LaPatra, Andrew J. Davison, Winfried Ahne, Mária Benkő: Phylogenetic studies on amphibian, reptilian and fish adenoviruses. 5th International Symposium for Viruses on Lower Vertebrates, Seattle, WA, USA, 2002. aug. 27-30. (előadás)

Szilvia L. Farkas, Zoltán Zádori, Mária Benkő, Balázs Harrach, Sandra Essbauer, Peter Tijssen: Phylogenetic analysis of a parvovirus isolated from royal python (*Python regius*). 14th International Congress of the Hungarian Society for Microbiology, Balatonfüred, Magyarország, 2003. okt. 9-11. (előadás)

Farkas L. Szilvia, Benkő Mária, Harrach Balázs: Az első, teljes hüllő-adenovírus genom-szekvencia: gabonasiklókból (*Elaphe guttata*) származó izolátum elemzése. *Akadémiai Beszámolók, Immunológia, virológia, bakteriológia* 31, Budapest, 2005. jan. 25., p6. (előadás)

Balázs Harrach, **Szilvia L. Farkas**, James F. X. Wellehan, Rachel E. Marschang, Sandra Essbauer, April J. Johnson, April Childress, Tibor Papp, Elliott R. Jacobson, Mária Benkő: Reptilian adenoviruses. The 6th International Symposium on Viruses of Lower Vertebrates, Hakodate, Hokkaido, Japán, 2004. szept. 19-22., p29. (előadás)

Köszönetnyilvánítás

Mindenek előtt őszintén köszönöm témavezetőimnek Dr. Benkő Máriának és Dr. Harrach Baláznak, hogy bevezettek a molekuláris biológia világába, lehetővé tették, hogy a Molekuláris Virologia Témacsoportban végezhessem doktori munkámat, valamint a sok segítséget és támogatást, amelyet a csoportban eltöltött évek alatt kaptam tőlük.

Köszönettel tartozom munkatársaimnak, különösképpen Ursu Krisztinának, Dr. Dán Ádámnak és Dr. Élő Péternek, amiért végtelen türelemmel segítettek a molekuláris biológiai módszerek elsajátításában.

Köszönetet szeretnék mondani Dr. Tekes Lajosnak, az Országos Állategészségügyi Intézet igazgatójának, amiért lehetővé tette az ALFTM Express (Pharmacia) szekvenáló használatát.

Köszönöm Prof. Peter Tijssennek, Dr. Zádori Zoltánnak kanadai tanulmányutam megszervezését és az együttműködésünk során nyújtott segítséget és technikai irányítást.