



**SZENT ISTVÁN EGYETEM
MEZŐGAZDASÁG- ÉS KÖRNYEZETTUDOMÁNYI KAR
ÁLLATTENYÉSZTÉS TUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA**

**EMBRIONÁLIS EREDETŰ ÓSSEJT-VONALAK
ALKALMAZÁSA IN VITRO MODELLRENDSZERKÉNT A
SEJTEK DIFFERENCIÁLÓDÁSA SORÁN LEJÁTSZÓDÓ
FOLYAMATOK MECHANIZMUSAINAK
TANULMÁNYOZÁSÁRA**

DOKTORI (PHD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

LICHNER ZSUZSANNA

**GÖDÖLLŐ
2011**

A doktori iskola

megnevezése: Állattenyésztés-tudományi Doktori Iskola

tudományága: Állattenyésztés-tudomány

vezetője: Dr. Mézes Miklós
egyetemi tanár, MTA doktora, akadémikus
Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar
Állattudományi Alapok Intézet, Takarmányozástani Tanszék

témavezető: Dr. Gócza Elen
tudományos munkatárs, PhD, habil
Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont
Genetikai Módosítás Program Csoport

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

1. ELŐZMÉNYEK

A mikroRNS (miRNS) útvonalról kimutatták, hogy növényekben és állatokban egyaránt részt vesz az őssejt pluripotenciájának fenntartásában. Számos próbálkozás történt embrionális őssejt (ES sejt) specifikus miRNS-ek azonosítására, amely lehetővé tette, hogy választ találjunk arra, mi lehet a miRNS útvonal szerepe az emlős embrionális őssejtben (ES sejt) és a differenciálódás kezdeti szakaszában. A pluripotens ES sejt két legfontosabb ismertetőjele, hogy korlátlan számú osztódásra képesek, és hogy a felnőtt állat valamennyi sejtje kialakulhat belőlük. Az embrióból izolált sejtekből származó pluripotens őssejt in vitro korlátlan ideig fenntarthatók, és megőrzik pluripotens tulajdonságukat.

Az egér ES sejtben kimutatható, hogy a miRNS-ek nagy része hat genomi lókusztól származik. Ezek közé tartoznak az ES sejt legnagyobb mennyiségben előforduló miRNS-ei, melyek a miR-290-295 klaszterrel keletkeznek. Ennek a miRNS klaszternek a tagjai ugyanabba a családba tartoznak, tehát ugyanazzal a központi felismerő szekvenciával rendelkeznek (AAAGUGC). Megállapították, hogy a miR-290-295 miRNS-ek az őssejt funkcionálisan domináns miRNS-ei. A miR-290-295 klaszter méhlepényes emlősökben fordul elő. Az egér genomában hét, egymás melletti prekuzorról keletkeznek. A pre-miRNS-eket egy 3.2 kb hosszú elsődleges transzkriptum kódolja. A klaszter konzervált emberben, egérben, patkányban, csimpánzban, kutya és szarvasmarha genomában, de nagy fokú variabilitást mutat. A klaszter az embrionális fejlődés során már a kettő-négy sejtes átmenetkor kifejeződik, és ezzel az első és legnagyobb mennyiségben előforduló a korai embrionális miRNS-ek között. A miRNS útvonal részletes funkcionális elemzése ellenére csak nagyon kevés tanulmány foglalkozik az egyes miRNS-ek ES sejtben betöltött szerepével.

2. AZ ÉRTEKZÉS CÉLKITŰZÉSEI

1. Hogyan jöhetett létre a miR-290-295 klaszter?
2. Milyen hatással van a miR-290-295 klaszter az egér embrionális őssejt morfológiai és növekedés beli tulajdonságaira?
3. Milyen transzkripció változások állhatnak a megváltozott őssejt tulajdonságok hátterében, ha túltermeltetjük a miR-209-295 klasztert egér ES sejtekben?
4. Megnevezhető-e egy fő biológiai mechanizmus, aminek a szabályzásával a miR-290-295 klaszter kifejti hatását az egér ES sejtekben?
5. Hatással van-e miR-290-295 klaszter az egér ES sejtek differenciálódási képességére?

3. EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

A miR-290-295 klaszter kialakulása

Az egér miR-290-295 klaszter hét prekurzort tartalmaz az Nlrp12 gén szomszédságában, ezek sorrendben: miR-290, miR-291a, miR-292, miR-291b, miR-293, miR-294 és miR-295. A humán klaszter pozíciója hasonló, de a klaszter rövidebb, csak három tagból áll, ezek: miR-371, miR-372 és miR-373 (miR-371-373 klaszter). A szekvenciát a Tandem Repeat Finder szoftver segítségével analizáltuk, valamint önmagával is összehasonlítottuk. A duplikált régió első része tartalmazza a miR-290, miR-291a, miR-291b és miR-292 prekurzorokat, míg az ismétlődés második szakaszáról miR-293, miR-294 és miR-295 keletkezik. Három különböző szekvenciaelemző program két, egymáshoz nagyon hasonló csoportot különített el a klaszteren belül. Az egyik csoportba a miR-290, a miR-292, a miR-293, a miR-295, a másik csoportba a miR-291a, a miR-291b, a miR-294 tartozik. Összegezve az ismétlődő elemek és a szekvenciaelemzés eredményeit, valószínűleg miR-290 és/vagy miR-291a lehet a miR-290-295 klaszter legősibb tagja. A miR-290-291a duplikációjával jöhetett létre miR-292 és miR-291b, majd ez a négy miRNS részlegesen megkettőződött, és létrehozta a miR-290-295 klasztert a mai ismert formában. Az egér miR-290-295 klaszter homológjai emberben két, egymáshoz közeli

régióban lokalizálódnak: ezek közül az egyik a már ismert homológ miR-371-373 klaszter, a másik pedig az alacsonyabb szintű egyezést mutató miR-512 klaszter.

A miR-290-295 klaszter befolyásolja az egér embrionális őssejtek kolónia képzési képességét és proliferációját.

A miR-290-295 klaszter miRNS kódoló részét klónoztuk, és a teljes miRNS klasztert konstitutívan és stabilan túltermelő egér ES sejt vonalakat hoztunk létre (#1, #2 és #3). A kiválasztott #1, #2 és #3 ES vonalakban a miR-290 expresszió 1,71- 1,93- és 2,37-szeres növekedését mértük a kontroll (üres vektorral és PBS-el transzfektált) ES sejtekkel összehasonlítva. #2 és #3 ES vonalak kolónia formálási képessége nem mutatott eltérést a kontroll A és B vonalakkal összehasonlítva, ha a sejteket a szokásos, 15% FBS-el (magzati borjú savó) és LIF-el (leukemia inhibitor faktor) kiegészített tápoldatban tenyésztettük, amit a sejtek magas endogén miR-290-295 szintjével magyarázhatunk. LIF hiányában az #1, #2 és #3 sejt vonalak átlagosan 15,3 17,4 és 34,5 számú kolóniát képeztek 100 darab sejt kiültetésekor. Ezek az értékek magasabbak a vektor1 és vektor 2 kontroll vonalak kolónia számának átlagánál (10,6). Hasonlóképpen, #2 és #3 transzgenikus vonalak több kolóniát képeztek a szérumszint 2%-ra való csökkentésekor, azonban magas szérumszint mellett nem figyelhető meg különbség a transzgenikus és kontroll ES sejtek között.

A szérumszint 2%-ra való csökkentésekor az A és B ES sejt vonalak proliferációja is alacsonyabb mértékű volt (1,1 és 1,07) mint a miR-290-295 túltermelő #2 és #3 ES vonalaké (1,54 és 1,39).

miR-290-295 miRNS-ek gátolják a korai differenciációs markereket mRNS és fehérje szinten.

A Taqman® Low-density Array (TLDA, Applied Biosystems) egyik kereskedelmi forgalomban lévő változata (egér 'Stem Cell Pluripotency Panel') 90 pluripotencia és korai differenciációs faktor valamint 6 belső kontroll gén mRNS expresszióját méri taqman alapú qPCR eljárással. Ez a technika alkalmas arra, hogy megközelítő képet kapjunk arról, hogyan hat a vizsgált miRNS klaszter túltermelése az őssejtek transzkriptomjára. Az eredmények alapján a kártyán található géneket két fő csoportba osztottuk. Az első kategóriába tartozó gének magas kifejeződést mutattak a kontrollként használt A, B és C ES vonalakban, míg expressziójuk jelentősen csökkent a miR-290-295 túltermelő #2 és #3 ES sejt vonalakban. Ebbe a csoportba főként a korai elköteleződésre jellemző gének tartoznak: Act1, FoxA2, Desmin, Fgf5 (endoderma

differentiálódás), Brachyury (T), Flt1 (mezoderma differenciálódás), Gal, Noggin, Nestin (neuroektoderma, neurális progenitorok) valamint Cdx2, Eomes és Gcm1 (trofoblaszt markerek). A második csoportba soroltuk azokat a géneket, amelyeknek a kifejeződése nem szignifikánsan emelkedett, vagy nem változott miR-290-295 túltermelés hatására. Ide főként összejt-specifikus gének tartoznak: Pou5f1, Sox2 és Fgf4, FoxD3, Lin28, Cd9, Utf1, Zfp42 és Lifr. A Brachyury expresszió eltérését fehérje szintjen immunfestéssel igazoltuk.

A miR-290-295 klaszter több pontos is szabályozza az egér ES sejtek sejtciklusát.

Abból a célból, hogy megállapítsuk, a miR-290-295 klaszter részt vesz-e a sejtciklus szabályozásában, propidium-jodidos festéssel megmértük a sejtciklus fázisok arányát a miR-290-295 túltermelő ES vonalakban (#1, #2 és #3) valamint a kontroll ES vonalakban (vektor1, és A). A szérumszint csökkentésekor a #3 ES vonal 8%-os növekedést mutatott a DNS szintézis (S) fázisban, 5% csökkenést a G0/G1 fázisban és 4% csökkenést a G2/M fázisban, ami összhangban áll a DGCR8 mutáns ES sejtek sejtciklus változásainak adataival. Az eredmények alapján miR-290-295 több ponton is befolyásolja a sejtciklust. A G1-S ellenőrzési pont gátlása mellett elősegítheti a G2-M átmenetet, ezáltal felgyorsítja a sejtciklust és ezzel együtt a sejtosztódást.

Fbxl5 és Wee1 transzkriptumok a miR-290-295 klaszter potenciális targetei.

A miR-290-295 miRNS-ek közvetlen cél mRNS-einek meghatározására a PicTar, TargetScan és miRBase programokat használtuk. In silico olyan célszekvenciákat kerestünk a 3'UTR régióban, melyek konzerváltak a patkány, egér és humán mRNS-eken. Két sejtciklus szabályzó gént (Fbxl5-öt és Wee1) és egy translációs elongációs faktort választottuk annak ellenőrzésére, hogy miR-290-295 klaszter közvetlenül hat-e a 3' UTR régiójukon. FBXL5 kölcsönhat a dinaktin-1 fehérjével és az ubiquitináció keresztül szabályozza annak visszaforgását. A centroszómális dinaktin megfelelő egyensúlya szükséges a G1-S tranzícióhoz. A Wee1 kináz a G2-M ellenőrzési pont jól ismert szabályozója. A prediktált target mRNS-ek teljes 3'UTR régióját a phRL-TK (Promega) riporter vektorba klónoztuk, közvetlenül a Renilla reniformis luciferáz enzim) fehérje kódoló részétől 3' irányba. Dual-Luciferase Assay Kit (Promega) segítségével meghatároztuk a Renilla luciferáz relatív aktivitását (Renilla/Photinus aktivitás hányadosa). A fibroblaszt sejtek nem termelik a miR-290-295 klasztert, ezért a fibroblasztban mért relatív Renilla luciferáz aktivitást 1,0-nek választottuk. Eef1b2 3'UTR nem viselkedett targetként in vitro. Ugyanakkor a

'B' ES sejtekben Fbx15 3' UTR-t tartalmazó konstrukció használatakor a relatív Renilla aktivitás a fibroblasztban mért érték tizedére csökkent. A relatív Renilla aktivitás további csökkenését tapasztaltuk (0,03) amikor a konstrukciókat a miR-290-295 túltermelő #2 ES vonalba transzfektáltuk. RL-Wee1 vektor alkalmazásakor a relatív Renilla luciferáz aktivitás értéke 0,39 B ES sejtekben és 0,11 a #2 transzgenikus ES sejtvonalonban. Ellenőriztük a luciferáz relatív expresszióját mRNS szinten a fibroblaszt, kontroll 'B' és a #2 sejtekben PL és hRL-TK vagy RL-Fbx15 illetve RL-Wee1 konstrukciók kotranszfektálását követően. Kvantitatív valós idejű RT-PCR-el nem mutatható ki a riporter konstrukcióról keletkező luciferáz mRNS expressziójának csökkenése, ami azt jelzi, hogy a fehérje-aktivitás csökkenés valószínűleg translációs gátlás eredménye. Amikor a prediktált targetek 3'UTR-ét reverz formában tartalmazó riporter konstrukciókkal transzfektáltuk a sejteket, nem csökkent a relatív Renilla luciferáz aktivitás. Ez a miR-290-295 miRNS-ek és a targetek specifikus kölcsönhatására utal. Végül fehérje szinten immunhisztokémiával és Western blot analízissel igazoltuk az Fbx15 fehérje mennyiségének csökkenését a miR-290-295 túltermelő ES klónokban.

A miR-290-295 klaszter késlelteti az egér embriónális őssejtek differenciációját, de nem képes azt megakadályozni.

Következő kérdésünk az volt, hogy elegendő-e a miR-290-295 klaszter folyamatos termelése ahhoz, hogy az ES sejtek megőrizzék pluripotens tulajdonságaikat különböző differenciációs körülmények között. Háromféle módon kezeltük a sejteket. Először az ES sejteket hosszabb ideig zselatinon tartottuk, ami (fibroblaszt sejtek hiányában) kedvezőtlen a pluripotens sejteknek, majd megmértük a sejtvonalak miR-290 expresszióját. A #2 és #3 ES sejtvonalak miR-290 szintje 5-ször illetve 4,9-szer magasabb volt, mint a kontroll B sejtvonale. A miR-294 2,4 illetve 2-szeres emelkedést mutatott, míg miR-295 szintben nem tapasztaltunk különbséget. qRT-PCR analízis erősebb relatív Oct4 expressziót mutatott a #2 és a #3 ES sejtvonalakban a B kontroll sejtvonallal képest. Hasonlóképpen alakultak a Nanog és a Zfp42 mRNS expressziós méréseinek eredményei. Ugyanakkor, Kdr1 korai differenciálódási marker kifejeződése alacsonyabb a miR-290-295 túltermelő ES sejtvonalakban.

Második lépésként összevetettük, hogy a transzgenikus és a kontroll ES sejtvonalak hogyan reagálnak a hosszabb idejű szérum megvonásra. A sejtvonalakot kolónia képzését AP festéssel követtük nyomon. 15% FCS-el kiegészített tápoldatban a kontroll B ES sejtkolóniák elveszítették

kerék, kompakt morfológiájukat, míg a miR-290-295 klasztert túl expresszálló #2 és #3 kolóniák továbbra is az embrionális őssejtekre jellemző tipikus morfológiát mutatták. alacsony szérumkoncentráció mellett tenyésztettük, öt nap elteltével a transzgenikus és a kontroll ES sejtek egyaránt nagy mértékű differenciálódást mutattak, ami azt jelzi, hogy a miR-290-295 klaszter ilyen kis mértékű túl expresszállatása nem elegendő a differenciálódás gátlásához.

A miR-290-295 túltermelés differenciálódásra való hatását egy adott irányba való elköteleződés (neuroektodermális differenciáció) során is megvizsgáltuk. A differenciáltatás ötödik napján a #2 és a #3 ES sejt vonal Oct4 expressziója magasabb volt mint a kontroll B sejt vonalé. A korábbi eredményekkel összhangban miR-290-295 túltermeltetése az Oct4 kisebb mértékű vesztéséhez, a pluripotencia jobb megőrzéséhez vezetett. Ugyanakkor a retinsavas kezelés kilencedik napján az Oct4 nagyon gyenge expresszióját mértük mindhárom ES sejt vonalban. Összefoglalva a kísérleti eredményeket, elmondhatjuk, hogy a miR-290-295 klasztert kódoló genomi régió ismétlődő elemekből áll, elősegíti az embrionális őssejtek pluripotenciájának megőrzését, és ezt a tulajdonságát valószínűleg a sejt ciklus szabályozásán keresztül érvényesíti.

4. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

- 1. miR-290-295 klaszter túlexpresszáltatása csökkenti a sejtek LIF megvonásra és szérum megvonásra adott válaszát:**
 - a. Segíti az ES kolónia képzési képesség és magas proliferációs készség fenntartását.
 - b. Gátolja a korai differenciálódási markerek megjelenését, így a brachyury fehérje expresszióját is.
 - c. Részt vesz a pluripotens embrionális őssejtekre jellemző sejtciklus profil megtartásában.

- 2. miR-290-295 klaszter egyik valószínű közvetlen targetje az Fbx15.**

- 3. miR-290-295 klaszter késlelteti az egér ES sejtek RA indukálta neurális és random irányú differenciálódását, de nem képes meggátolni a differenciálódást**

5. PUBLIKÁCIÓS JEGYZÉK

Külföldön kiadott tudományos folyóiratok

Lichner, Zs., Silhavy, D., Burgyan, J. (2003): Double-stranded RNA-binding proteins could suppress RNA interference-mediated antiviral defences. *Journal of General Virology* 84. 975-80. **IF: 3,260**

Lichner Z, Páll E, Kerekes A, Pállinger E, Maraghechi P, Bősze Z, Gócza E. (2011): The miR-290-295 cluster promotes pluripotency maintenance by regulating cell cycle phase distribution in mouse embryonic stem cells. *Differentiation*, 81(1):11-24. **IF: 3,311**

Kongresszusi kiadványokban megjelent közlemények angolul

Lichner, Zs., Páll, E., Bősze, Zs., Gócza, E. (2008): Investigation the role of stem cell specific mmu-miR-290-295 cluster. First International Conference of Functional Annotation 1of The Mammalian Genome, P18., p31. 2008.01.23-25., Rottach-Egern, Germany, poster, abstract

Lichner Zs., Páll, E., Gócza, E. (2008): Investigation the role of stem cell specific mmu-miR-290-295 cluster. Institute of Experimental Medicine of the Hungarian Academy of Sciences, Stem cell mini-symposium, 2008.02.11. **lecture**

Pall, E., Lichner, Zs., Bontovics, B., Gocza, E. (2008): Differentiation of embryonic stem cells: lessons from embryonic development. *Lucrări științifice Zootehnie și Biotehnologii*, 41 (1), 130-137. ISSN 1221-5287

Vintilă, R.D., Ilie, D., Gavriiuc, O., Gócza, E, Lichner, Zs., Vintilă, C., Nichita, I., Cotulbea, S., Tatu, C. (2008): Utricular epithelia in mice contains pluripotent stem cells *Lucrări științifice Zootehnie și Biotehnologii*, 41(1), p174-180., abstract

Gócza, E., Lichner, Zs., Carstea, V.B., Dobó, K., Bontovics, B., Bősze, Zs. (2008): Examination of microRNA mmu-miR-290 expression level alteration in mouse embryonic stem cells with increasing passages number. *Transgenic Research* 17/5 pp.1008-1009, poster, abstract

IF: 2,809

- Lichner, Zs., Páll, E., Bősze, Zs., Gócza, E. (2008): Overexpression of miR290-295 miRNA cluster in mouse ES. Transgenic Research 17/5. p1014, poster, abstract **IF: 2,809**
- Pall, E., Lichner, Zs., Groza, I., Gócza, E. (2008): LIF: its implication in mouse embryonic stem cells pluripotency. Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca, Veterinary Medicine, 65/1 pISSN-1843-5270, eISSN 1843-5378. absztrakt
- Lichner, Zs., Páll, E., Bősze, Zs., Gócza, E. (2008): Overexpression of miR290-295 miRNA cluster in mouse ES. ESTOOLS Consortium Meeting, p20., Magyar Őssejt konferencia, Budapest, Hungary, 2008.05.05, poster, **lecture**, abstract
- Gócza, E., Lichner, Zs., Páll, E., Pállinger É., P. Maraghechi, Bontovics, B., Bősze, Zs., (2009): Function of miR-290-295 micro RNA cluster in mouse embryonic stem cell self-renewal. ISSCR 7th Annual Meeting, p121, 757, Barcelona, Spain, July 8-11, 2009, poster, abstract
- Maraghechi, P., Lichner, Zs., Hiripi, L., Lemos, A.P.C., Bősze, Zs. Gócza, E. (2009): On the role of LIF and bFGF in rabbit ESC line derivation, characterization of pluripotency marker expression in rabbit ESC lines. The 3rd International Meeting on Rabbit Biotechnology. Xian, China, June 4-5., 2009. poster, abstract, Worl Rabbit Sci. 16 (239), **IF: 0,453**
- Gócza, E., Maraghechi, P., Lichner, Zs., Hiripi, L., Lemos, A.P.C., Bősze, Zs. (2009): Examination of the influence LIF and bFGF on the efficiency of rabbit ESC line derivation. Regenerative Medicine, 4(6) Suppl. 2. S183-184., World Conference on Regenerative Medicine, Leipzig, Germany, October 29-31., 2009., abstract, poster, **IF: 2,929**
- Maraghechi, P., Lichner, Zs., Hiripi, L., Lemos, A.P.C., Bősze, Zs., Gócza, E. (2010): Investigation of the effect of LIF and bFGF on rabbit ESC pluripotency and derivation efficiency. Transgenic Research 19(2) p341, poster, abstract **IF: 2,467**
- Maraghechi, P., Lichner, Zs., Bősze, Zs., Gócza, E. (2010) Identification of embryonic stem cell-specific microRNAs. Non-Coding Genom conf. Heidelberg, abstract, poster

Kongresszusi kiadványokban megjelent közlemények magyarul

- Gócza E., Lichner Zs. (2007): Embrionális őssejtek sokszínű világa. Fókuszban az Őssejt-kutatás, Art Hotel, Budapest, 2007.03.29.
- Dobó K., Carstea V.B., Stanca C., Lichner Zs.(2007): Egér embrionális őssejtek ivarsejt kiméra

- alkotó képességének vizsgálata. VII. Magyar Genetikai Kongresszus / XIV. Sejt- és Fejlődésbiológiai Napok, P034, p110, Balatonfüred, 2007.04.15-17., poszter
- Lichner Zs., Páll, E., Bősze, Zs., Gócza, E. (2007): Szívizom-specifikus miRNS vizsgálata *in vitro*. VII. Magyar Genetikai Kongresszus / XIV. Sejt- és Fejlődésbiológiai Napok, P070, pp. 141-142, Balatonfüred, 2007.04.15-17., poszter
- Lichner Zs., Páll, E., Bősze, Zs., Gócza, E. (2007): Szívizom-specifikus miRNS vizsgálata *in vitro*. SZIE, Állattenyésztés-tudományi Doktori Iskola, III. fórum, p28. Gödöllő, előadás
- Gócza, E., Lichner, Zs., Páll, E., Bontovics, B., Bősze, Zs. (2008): Embrionális eredetű őssejt-vonalak szerepe a differenciálódás során lejátszódó folyamatok mechanizmusainak tanulmányozásában. „RNS Országgyűlés, Visegrád”, pp. 5-8., 2008.04.03-04., absztrakt,
- Gócza E., Lichner Zs., Páll E., Bontovics B., Maraghechi, P., Bősze Zs. (2008): A differenciálódás során lejátszódó folyamatok mechanizmusának tanulmányozása egér embrionális eredetű őssejtek felhasználásával. Charles River Laboratories, Partner találkozó, Gödöllő, 2008. 11.12., absztrakt
- Gócza E., Lichner Zs., Páll E., Bontovics B., Maraghechi, P., Bősze Zs. (2008): A miR290-295 őssejt specifikus mikro RNS-ek, illetve őssejt specifikus transzkripciós faktorok expressziós mintázatának vizsgálata egér embrionális őssejt vonalakban. MBK Napok p8., Gödöllő, 2008.11.17-18., absztrakt
- Bontovics B., Lichner Zs., Páll E., Carstea V.B., Maraghechi P., Bősze Zs., Gócza E. (2009): A miR-290-295 őssejt specifikus mikro RNS-ek, illetve őssejt specifikus transzkripciós faktorok expressziós mintázatának vizsgálata egér embrionális őssejt vonalakban. VIII. Magyar Genetikai Kongresszus, XV. Sejt- és Fejlődésbiológiai Napok, Nyíregyháza, p135, PS06, 2009.04.17-19., absztrakt, poszter
- Lichner Zs., Páll E., Bősze Zs., Pállinger É., P. Maraghechi, Gócza E (2009): Az mmu-miR-290-295 őssejt specifikus mikroRNS klaszter funkcionális analízise egér embrionális őssejt vonalakban. VIII. Magyar Genetikai Kongresszus, XV. Sejt- és Fejlődésbiológiai Napok, Nyíregyháza, p136, PS07, 2009.04.17-19., absztrakt, poszter
- Lichner, Zs., Páll, E., Bontovics, B., Pállinger É., P. Maraghechi, Bősze, Zs., Gócza, E.(2009): Az mmu-miR-290-295 mikro RNS klaszter szerepe az egér embrionális őssejtek sejtciklusának szabályozásában „Consilium Silvanus, Pone Navata” Visegrád, pp. 23-28., 2009.06.18-19., absztrakt

6. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A dolgozat elkészítéséhez szükséges kísérleteket a Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpontban végeztem. Köszönöm Dr. Nagy Ferencnek és Dr. Kiss György Botondnak az MBK volt és jelenlegi főigazgatóinak, hogy lehetővé tették a dolgozat elkészítését.

Köszönettel tartozom témavezetőmnek Dr Gócza Elennek és Dr. Bősze Zsuzsannának a hosszúra nyúlt munkám során nyújtott folyamatos és nélkülözhetetlen segítségükért.

Hálával tartozom Dr. Hiripi Lászlónak, Dr. Baranyi Máriának, Dr. Bodrogi Lillának, Dr. Bender Balázsnak, Dr. Ana Paula Catunda Lemosnak, Dr. Páll Emőkének, Dr. Pállinger Évának, Dr Révay Balázsnak, Grófné Marikának, Kerekes Andreának, Bontovics Babettnak, Pouneh Maraghechinek és az egész Genetikai Módosítás Program csoportnak a kísérletekben nyújtott segítségükért.

Munkám anyagi fedezetét a OM-00367/2004, OMFB-00368/2008 és ETT 405/2006, ANR-NKTH-Plurabit, 2009 pályázatok biztosították.