



SZENT ISTVÁN EGYETEM

Állattenyésztés Tudományi Doktori Iskola

**LENTIVÍRUS ALAPÚ TRANSZGENEZIS ÉS A
SLEEPING BEAUTY TECHNOLOGIA ALKALMAZÁSA
TRANSZGÉNIKUS NYULAK ELŐÁLLÍTÁSÁBAN**

Doktori (PhD) értekezés tézisei

Hoffmann Orsolya Ivett

Gödöllő

2013

A doktori iskola

megnevezése:

Állattenyésztés Tudományi Doktori Iskola

tudományága:

Állattenyésztés-tudomány

vezetője:

Professzor Dr. Mézes Miklós D.Sc., akadémikus

Tanszékvezető, egyetemi tanár

Szent István Egyetem,

Mezőgazdasági- és Környezettudományi Kar,

Állattudományi Alapok Intézet,

Takarmányozástani Tanszék

témavezető:

Dr. Hiripi László

Csoportvezető, tudományos főmunkatárs,

Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont,

Kérődző Genom Biológiai Csoport

.....

Az iskolavezető jóváhagyása

.....

A témavezető jóváhagyása

1. A MUNKA ELŐZMÉNYEI, A KITŰZÖTT CÉLOK

A biotechnológia résztudománya a transzgenezis, amely az élő szervezetek genomjának módosítására alkalmas módszerek halmazát öleli fel. A transzgénikus technikák kettős megítélésük ellenére napjaink jelentős tudományterületei közé tartoznak, a transzgenezis segítségével létrehozott szervezetek alkalmasak betegségek modellezésére, rekombináns fehérjék termeltetésére, gének funkcióinak vizsgálatára. Mára a transzgénikus élőlények a laboratóriumokból kikerülve a mezőgazdaságban is jelen vannak és – akarva-akaratlan – belopóztak életünkbe. Megtalálhatjuk őket szántóföldjeiken, tányérjainkban, de még háziállataink között is.

A nyúl a laboratóriumi állatok és a haszonállatok halmazainak metszetében található. Laboratóriumi modellként rendkívül hasznos humán betegségek tanulmányozásában, különböző szöveteiben pedig gyakorta termeltetünk rekombináns fehérjéket. Filogenetikai és fiziológiai szempontból közelebb áll az emberhez, mint laboratóriumi modelltársai, az egér vagy a patkány. Sokat alkalmazott alany a reprodukció modellezésére, és a mikromanipulációs technikák (előmagi injektálás, embriófelezés) kipróbálására.

A nyúl genetikai módosításáról elmondható, hogy ugyan régóta létezik, viszont a hatékonyság szempontjából még gyerekcipőben járó módszerek használatosak a transzgénikus nyúlmodellek előállítására. A szakirodalomban leírt transzgénikus nyúlvonalak létrehozásának hatékonysága néhány százalék, ami nem csak időbeli és anyagi hátrányokat hordoz magában, de állatvédelmi kérdéseket is felvet.

Munkám célja az volt, hogy kidolgozzak egy könnyen alkalmazható és az eddigieknél nagyobb hatékonysággal működő transzgénikus technológiát nyúl esetében. Dolgozatomban két második generációs technológiát mutatok be, ami alkalmas a nagy hatékonyságú transzgenezisre ezen a fajon is.

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

A transzgénikus nyúl vonal előállításához a laboratóriumi gyakorlatban bevált Hycole fajtát használtuk. Az állatokat konvencionális állatházban tartottuk, egyedi ketrecekben, $18\pm 3^{\circ}\text{C}$ hőmérsékleten, 12 óra megvilágítás, *ad libitum* takarmányozás mellett.

A Hycole nőstény embriódonor nyulakat 3-4 hónapos korban, legalább 3,5 kg testsúly megléte mellett, 120 nemzetközi egység PMSG-vel oltottuk be intramuszkulárisan. 72 óra elteltével 180 nemzetközi egység hCG-vel intravénásan kezeltük a nőstény nyulakat. Ugyanekkor mesterségesen termékenyítettük is őket, Hycole hímek frissen vett spermájával. A megtermékenyülést követő nap reggelén a nőstények petevezetőjét eltávolítottuk. A petevezetőkből a zigótákat 20% FCS-sel kiegészített PBS médiumba mostuk ki. A mikroinjektálásig az embriókat M2 médiumban ásványi olajjal lefedve, $38,5^{\circ}\text{C}$ -on, 5% CO_2 -dal telített környezetben tartottuk.

Kísérleteinkben a mikroinjektálás két alapvető módszerét használtuk: egyrészt a hagyományos előmag injektálást a Sleeping Beauty transzpozon rendszerrel történő transzgenézishez, másrészt a lentivírus konstrukciók perivitellinális térbe történő injektálását.

A donor állatok petevezetőiből kimosott egysejtes embriókat kiválogattuk. A mikroinjektáláshoz megfelelő, jól kivehető előmaggal rendelkező embriókat mélyített tárgylemezen lévő 20 μl -es médium (20% FCS-sel kiegészített PBS) cseppbe helyeztük. Az embriókat tartalmazó médiumcseppet embrióolajjal fedtük le, elkerülve ezzel a párolgás miatti koncentráció változást. A tárgylemezt óvatosan a mikroszkóp (Olympus IMT-2) tárgyasztalára helyeztük, és a mikromanipulátor karok (Narishige) és üvegkapillárisok segítségével elvégeztük az injektálást.

A mikromanipulált embriókat laparoscóp segítségével álvemhes nőstények petevezetőjébe juttattuk. A megszületett utódok közül UV fény és transzgén specifikus PCR módszer segítségével válogattuk ki a transzgénikus egyedeket.

A transzgenézis hatékonyságának, az integráció helyének, és a beépült kópiák számának meghatározását a szokásos molekuláris technikákkal végeztük. Mikroszkóposan és molekulárisan vizsgáltuk a transzgén megjelenését az egyes szövetekben.

Mindkét módszer esetében 4 alapítót kiválasztottunk továbbtenyésztésre.

3. EREDMÉNYEK

3.1.Lentivírus alapú transzgenezis

Laboratóriumunkban az elkészített lentivírus vektort az egysejtes nyúl embriók perivitellinális terébe injektáltuk, hiszen a vírus sejtmembránon át is képes a fertőzésre. A lentivírusos technológia egyik nagy előnye, hogy ez a mikroinjektálási módszer könnyebben kivitelezhető és kevésbé romboló az embriókra, mint az előmagba történő mikroinjektálás. Ezt alátámasztják kísérleteink is, hiszen az anyák 81%-a szült és a beültetett embriók 29,8%-a megszületett.

Esetünkben az összes (28 darab) alapító különböző mértékben ugyan, de mozaicizmust mutatott, ami alátámasztja az előző felvetést. Az általunk kiválasztott négy – vizuálisan kevésbé mozaikosnak tűnő – alapítótól 215 darab F1 utód született. Ezek közül egy transzgénikus állat sem született meg. A 215 darab F1 utód közül összesen három esetben tudtuk PCR-rel kimutatni a transzgén jelenlétét. Két – halva született – utód hordozta ugyan a transzgént, de fehérjeszintű expressziót nem tapasztalunk esetükben. Ezt a csendesítést valószínűleg különböző epigenetikai módosítások okozhatják, amit már más emlősök esetében is leírtak lentivírusos transzgenezis esetében. Egy 13,5 napos magzat minden szövetében fehérje szinten is expresszálta a transzgént. Tehát a SIV lentivírus konstrukcióval bejuttatott transzgén öröklődése megtörtént.

3.2.Transzpozon alapú transzgenezis

Kísérleteink során az előállított Sleeping Beauty transzpozon rendszer elemeit tartalmazó injektáló oldattal mikroinjektáltunk egysejtes nyúl embriókat. A mikroinjektálást az embriók apai előmagjába végeztük, hiszen az injektáló oldatban található transzgén egy cirkuláris plazmidon van jelen. A mikroinjektált és beültetett embriók 10 %-a, 46 kisnyúl született meg. A vemhesülési arány 40%-os volt, ami megszokottnak mondható. Az alomszámok kicsivel alacsonyabbak voltak a lentivírusos technológiához képest. Ez esetben 2 és 11 között változtak. A megszületett 46 kisnyúl 15%-a transzgénikusnak bizonyult. Mind a hét darab alapító expresszálta is a transzgént, géncsendesítést nem tapasztaltunk. Az alapítóknál ugyanúgy, mint a lentivírusos transzgenezis esetén, itt is megfigyelhető volt mozaikosság, azonban a négy szaporításra kiválasztott alapító mindegyike ivarsejtjeiben hordozta és örököltette a transzgént.

Tehát mindkét technológia mozaicizmussal jár, azonban a SB transzgenezis esetében inkább a nyúl embrió gyors fejlődésének, mintsem a technológia sebességének tudható be a jelenség. Ezt támasztja alá az is, hogy egérben sokkal kevesebb esetben lép fel mozaikosság az SB transzpozon rendszer használatakor, mint nyúlban.

A SB 3 BT alapító transzgén beépülésének és riportergén expressziójának széleskörű vizsgálata után homozigóta vonalat alapítottunk. A vonalban több generáció után sem jelentkezett géncsendesítés, az utódok egészségesek, fejlődésük és fiziológiai paramétereik nem térnek el hasonló korú társaiktól. A transzgén jelenlétét különböző szövetek metszetein is megvizsgáltuk, egyetlen sejtípus esetén sem tapasztaltunk géncsendesítést, egérben ugyanakkor leírtak ilyen esetet.

4. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Transzpozon alapú transzgenezissel a világon először sikerült transzgénikus nyulat előállítanom.

2. Részt vettem a világon elsőként lentivírus alapú transzgenezis segítségével létrehozott nyulak előállításában.

3. A lentivírusos transzgenezissel létrehozott alapítók mozaikosak ugyan, viszont a transzgén mindhárom csírvonal szöveteiben expresszálódhat. Megállapítottam, hogy a transzgén öröklődése a lentivírus használata esetén nagyon alacsony hatékonyságú nyúlban.

4. A Sleeping Beauty transzpozon rendszerrel sikerült létrehoznom egy olyan riporter gént stabilan, minden szövetében expresszáló transzgénikus nyúlvonalat, amely az eddigiekben a szakirodalomból hiányzott és további kísérleteinkhez elengedhetetlen.

5. A Sleeping Beauty transzpozon rendszerrel enyhén mozaikos, de a transzgén tekintetében mendeli öröklődést mutató vonalat sikerült létrehoznom, amelyben géncsendesítést nem tapasztaltam. Megállapítottam, hogy a Sleeping Beauty transzpozon rendszerrel olyan transzgénikus alapítók hozhatók létre, amelyekben a beépülések száma alacsony és nem érint géneket.

6. Nyúlban a lentivírus és a transzpozon alapú módszerek összehasonlításával megállapítottam, hogy a Sleeping Beauty transzpozon rendszer mind hatékonyságában, mind használhatóságában felülmúlja a hasonló, eddig alkalmazott módszereket.

5. EREDMÉNYEK MEGVITATÁSA ÉS JAVASLATOK

Munkám célja az volt, hogy különböző, napjainkban más fajokon már sikerrel alkalmazott, második generációs technológiák segítségével hozzak létre riporter gént expresszázó transzgenikus nyúl vonalakat. Ezek a vonalak ugyan jól használhatók különböző fejlődésbiológiai kérdések tisztázására, mégis kísérleteimnek fő célja, hogy bizonyítsa a második generációs módszerek használhatóságát és hatékonyságát nyúl esetében is.

Laboratóriumunkban is a hagyományos DNS mikroinjektálás módszerét alkalmaztuk az eddigiekben transzgenikus nyúl vonalak létrehozására. Saját kísérleteinkben a megszületett utódok körülbelül egy, de maximum 6%-a lesz transzgenikus a hagyományos DNS alapú transzgenezis esetén. Ezen módszer alternatívájaként próbáltuk ki a lentivírusos és a transzpozon alapú technológiákat.

Lentivírus alapú transzgenezissel nagy hatékonysággal sikerült létrehoznunk a transzgént hordozó egyedeket. Azonban a transzgén öröklődése a mendeli szabályoktól nagyon eltérő arányokat mutatott, ami valószínűleg a nagy mértékű mozaikosságnak vagy géncsendesítési folyamatoknak tudható be. Igaz, hogy a lentivírus konstrukciók perivitellinális térbe való mikroinjektálása kevésbé károsítja az embriókat, így több magzatot eredményez, viszont vannak hátulütői is a lentivírusos technikának. A lentivírus integrációjához szükséges idő hosszabb, mint egy lineáris DNS fragment esetén, így gyakrabban jöhetnek létre mozaikos utódok. Ráadásul a nyúl embriófejlődés sajátossága, hogy az első és második osztódás viszonylag hamar lezajlik, így a transzgén nagyobb eséllyel már csak az egyik utódsejtbe épül be.

Fontos megemlíteni, hogy a SIV alapú lentivírus konstrukció előtt több HIV alapút is kipróbáltunk és ezek egyike sem működött nyúl esetében. Ez az érdekes tény további kutatások alapját képezheti, érdemes lenne megállapítani, hogy vajon ezen a fajon miért nem működnek a HIV alapú konstrukciók.

További kísérleteket lehetne végezni azzal kapcsolatban, hogy mekkora promóter szükséges a konstrukcióba. Mivel a lentivírus hordozókapacitása közepesnek mondható, így a szabályozó szekvenciák rövidítésével teret nyernénk a transzgén szekvenciának. Ráadásul egyre rövidebb promótereket tartalmazó konstrukciók expresszióját alapító egyedek esetében is lehet vizsgálni, így nem szükséges a transzgén öröklődése.

Összességében a lentivírusos transzgenezis nyúl esetében fél sikerrel zárult, hiszen nagyszámú transzgenikus alapítót eredményezett, ugyanakkor a transzgenikus vonal alapítás nem történt meg a transzgén rossz öröklődése miatt. Elmondható, hogy a perivitellinális térbe

történő mikroinjektálás az embriókat kevésbé károsítja, amit alátámasztanak a kitűnő születési ráták és magas alomszámok.

Bár ivarsejt szinten több esetben ki tudtuk mutatni a transzgén jelenlétét, az az élve született utódokban nem volt jelen. Mindezen eredmények azt mutatják, hogy a SIV lentivírus konstrukció használata a nyúl transzgenéziséhez ugyan sikeres, de nem a legmegfelelőbb módszer. Kísérleteink bizonyították, hogy a nyúl embrió fejlődésének gyorsasága és a beépült gén csendesítése miatt a transzgén öröklődése nehézkes. Ugyanakkor ezt a módszert fel tudjuk használni olyan kísérletekben, ahol nem szükséges a transzgén öröklődése.

Elmondható, hogy a Sleeping Beauty transzpozon rendszerrel gyorsan és hatékonyan sikerült homozigóta formában fenntartható, Venus riporter gént expresszáló transzgenikus nyúl vonalat létrehoznunk. Ez a rendszer bizonyult a leghatékonyabbnak és biztosabbnak a nyúl transzgenéziséhez.

A három laboratóriumunkban alkalmazott módszer összehasonlításával megállapíthatjuk, hogy a lentivírusos transzgenézis használatával dupla annyi transzgenikus utódot kaptunk, mint a Sleeping Beauty transzpozon rendszer esetén. Azonban a lentivírusos alapítók a transzgént valószínűleg mozaikusságuk és géncsendesítési folyamatok miatt nem örökítették át élő utódokba. Ezzel szemben a transzpozon alapú rendszerben még a fellépett mozaicizmus ellenére is a mendeli szabályoknak megfelelő arányú transzgenikus utódot kaptunk. A plazmid alapú transzgenézisnek messze elmarad a hatékonysága a két második generációs módszertől, viszont sokkal jobb az öröklődés hatékonysága, mint a lentivírusos transzgenézis esetében.

	Plazmid alapú transzgenézis	Lentivírus alapú transzgenézis	Sleeping Beauty transzpozon rendszer
transzgenézis hatékonysága	1-6%	32%	15%
hordozó kapacitás	>2 Mb	<10 kb	<6 kb
beépülés helye	random	random	random (TA)
beépülés formája	konkatamer	egyedi	egyedi
expresszió aránya	50%	21%	100%
öröklődés	jó hatékonysággal	rossz hatékonysággal	mendeli úton

Az általam vizsgált két módszer hasonlósága, hogy az integráció helye random, bár a Sleeping Beauty transzpozáznak TA célszekvenciája van. A hordozó kapacitást tekintve a

lentivírus vektorok felülmúlják a Sleeping Beauty transzpozont, azonban utóbbinak is elég a kapacitása egy eukarióta génextpressziót biztosító kazetta beviteléhez. (Legnagyobb hordozó kapacitással természetesen a BAC transzgenezis rendelkezik, ebben az esetben akár több eukarióta gén teljes kódoló szekvenciáját is bejuttathatjuk transzgenként.) Mind három módszer esetében elmondható, hogy a bevinni kívánt transzgen hosszának növelésével a transzgenezis hatékonysága csökken.

Ahogy az ENCODE projekt révén kezdjük megismerni a génektől távolabb elhelyezkedő szabályozó szekvenciák jelentőségét, úgy egyre nagyobb igény alakul ki a hosszabb szekvenciák hatékony bevitelére. A jövőben hasznos lenne a transzpozon rendszer hordozó kapacitásának növelése, hogy akár a BAC transzgenezishez hasonló méretű transzgen szekvenciákat is képesek legyünk bevinni segítségével. Ennek a technikának a kidolgozása nyilván is lehetséges és fontos lenne.

A két utóbbi rendszer nagy előnye, hogy nem jellemző rájuk a konkatamerek beépülése, ami a BAC transzgenezis és a hagyományos DNS alapú transzgenezis sajátossága. A konkatamerek genombeli elhelyezkedésének és kópiaszámának meghatározása nagyon nehézkes, így transzgenikus vonalak előállításához az ilyen alapítók használata azért nem célszerű, mert a belőlük létrehozott vonal jellemzése akadályokba ütközhet. A lentivírusos és a transzpozon alapú transzgenezis esetében is a transzgen az esetek döntő többségében egy vagy néhány kópiában épül be a genom egy véletlenszerű helyére, konkatamerek képződése nélkül.

A transzgenezis területén a szekvencia specifikus nukleáz technológiák térhódítására lehet számítani. A TALEN vagy a ZFN (zink finger nuclease) technológiák magas hatékonyság mellett teszik lehetővé gének célzott kiütését. Gyorsaságuk és egyszerűségük (vö. knock out technológia) miatt már most is sok laboratórium alkalmazza ezeket az eljárásokat, igaz egyelőre borsos áron. Ezek a módszerek nyilván esetében is jól működnek, laboratóriumunkban tervezzük a TALEN technológia kipróbálását.

Munkám összegzéseként elmondható, hogy mind a lentivírus alapú transzgenezissel, mind a Sleeping Beauty transzpozon rendszerrel sikerült transzgenikus utódokat létrehoznunk. Találtuk a napjainkban elérhető technológiák közül egy olyat, ami nyilván esetében is hatékonyan alkalmazható. A Sleeping Beauty transzpozon rendszert fogjuk alkalmazni további kutatásaink során a nyilván transzgeneziséhez.

6. PUBLIKÁCIÓS LISTA

1. Impakt faktoros első szerzős cikk

The FASEB Journal vol. 27 no. 3 930-941

Transposon-mediated Transgenesis, Transgenic Rescue, and Tissue-specific Gene Expression in Rodents and Rabbit

Kettler K #, Geurts A #, **Hoffmann O** #, Mátés L., Landae V, Hiripi L, Moreno C., Lazar J, Bashir S, Zideke V, Popova E , Jerchow B, Becker K, Devaraj A, Walter I, Grzybowksi M, Corbett M, Filho RA, Hodges MR, Bader M, Ivics Z, Jacob HJ, Pravenec M, Bősze Zs, Rüllicke T and Izsvák Z # contributed equally

IF=5,712

2. Referált cikk

PLoS One. 2012;7(1):e28869. Epub 2012 Jan 11.

Characterisation of the Rabbit Neonatal Fc Receptor (FcRn) and Analyzing the Immunophenotype of the Transgenic Rabbits That Overexpress FcRn Catunda

Lemos AP., Cervenak J., Bender B., **Hoffmann OI.**, Baranyi M., Kerekes A., Bősze Zs., Hiripi L., Kacskovics I.

IF=4,411

Transgenic Res. 2010 Oct;19(5):799-808. Epub 2010 Jan 13.

Transgenic rabbit production with simian immunodeficiency virus-derived lentiviral vector

Hiripi L., Negre D., Cosset FL., Kvell K., Czömpöly T., Baranyi M., Gózca E., **Hoffmann OI.**, Bender B., Bősze Zs.

IF=2,569

3. Nemzetközi konferencián tartott előadás

Transzgénikus nyúl létrehozása lentivírus alapú transzgenézissel

Hoffmann O.I., Hiripi L., Ivics Z., Izsvák Zs., Mátés L., Bősze Zs.

TUDOC-2010, Kárpát medencei doktoranduszok nemzetközi konferenciája, Gödöllő, 2010

Sleeping Beauty transgenesis in rabbit

Hoffmann O.I., Hiripi L., Ivics Z., Izsvák Zs., Mátés L., Bősze Zs.

4th International Rabbit Biotechnology Meeting, 30th June – 1st July 2011, Hungarian Academy of Sciences, Budapest

IgG binding FcRn transgenic rabbits created through BAC transgenesis

Bősze Zs., Hiripi L., **Hoffmann O.I.**, Kerekes A., Bender B., Kacskovics I.

4th International Rabbit Biotechnology Meeting, 30th June – 1st July 2011, Hungarian Academy of Sciences, Budapest

Alternative transgenic methods in rabbit

Hiripi L., **Hoffmann O.I.**, Bősze Zs.

RGB-Net Meeting, 28-30 March 2012, Bologna, Italy

4. Hazai konferencián tartott előadás

Az ABCG1 transzporter túltermelésének hatása transzgénikus egér embriókban

Hoffmann O.I., Hiripi L., Bősze Zs.

1. Gödöllői Állattenyésztési Tudományos Napok, Gödöllő, 2008

Lentivírus alapú transzgenezis nyúlban

Hiripi L., Kvell K., Czömpöly T., **Hoffmann O.I.**, Baranyi M., Cosset F-L., Negre D., Bodrogi L., Gócza E., Bősze Zs.

MBK Napok, Gödöllő, 2009

Transzgénikus nyulak létrehozása lentivírus vektorokkal

Hiripi L., Kvell K., Gócza E., Czömpöly T., Bodrogi L., **Hoffmann O.I.**, Baranyi M., Bősze Zs.

VIII. Magyar Genetikai Kongresszus és XV. Sejt- és fejlődésbiológiai Napok, Nyíregyháza, 2009

IgG kötő Fc receptort túltermelő transzgénikus nyúlmodell előállítás

Hiripi L., **Hoffmann O.I.**, Cervenák J., Dobrosi N., Bíró T., Bender B., Kacs Kovics I., Bősze Zs.

MBK Napok, Gödöllő, 2009

Transzgénikus nyúl létrehozása lentivírus alapú transzgenezissel

Hoffmann O.I., Hiripi L., Negre D., Cosset F-L., Kvell K., Czömpöly T., Baranyi M., Gócza E., Bender B., Bősze Zs.

22. Nyúltenyésztési Tudományos Nap, Kaposvár, 2010

A nyúl FcRn túltermelésének hatása az immunválaszra nyúlban

Hiripi L., Catunda A.P.C., Cervenák J., Bender B., **Hoffmann O.I.**, Baranyi M., Kerekes A., Farkas :, Bősze Zs., Kacs Kovics I.

MBK Napok, Gödöllő, 2011

IgG kötő Fc receptort túltermelő transzgénikus nyúlmodell előállítás

Hoffmann O.I., Hiripi L., Cervenák J., Dobrosi N., Bíró T., Bender B., Kacs Kovics I., Bősze Zs.

Szegedi Minikonferencia, Szeged, 2011

A Sleeping Beauty transzpozon rendszer alkalmazása nyúlban

Hoffmann O.I., Hiripi L., Ivics Z., Izsvák Zs., Mátés L., Bősze Zs.

MBK Napok, Gödöllő, 2011

Transzgénikus nyulak létrehozása Sleeping Beauty transzpozon felhasználásával

Hoffmann O.I., Hiripi L., Ivics Z., Izsvák Zs., Mátés L., Bősze Zs.

IX. Magyar Genetikai Kongresszus és XV.I Sejt- és fejlődésbiológiai Napok, Siófok, 2011 március 25-27.

Szarvasmarha szabályozó SNP-k tesztelése in vivo egér modellben

Hoffmann O.I., Bartha E., Lejard V., Rocha D., Bősze Zs., Hiripi L.

MBK Napok, Gödöllő, 2011

5. Nemzetközi konferencián bemutatott poszter

Adaptation of the lentiviral technology to produce transgenic rabbit

Hiripi L., Kvell K., Czömpöly T., Baranyi M., Gócza E., Bender B., **Hoffmann O.I.**, Bősze Zs.

Chromatin domains and insulators, Baeza, Spain, 9th-11th November 2009, Baeza, Spain

Cloning and characterization of the rabbit neonatal Fc receptor

Lemos Ana Paula Catunda, Judit Cervenak, **Orsolya Hoffmann**, Anita Farkas, László Hiripi, Imre Kacskovics

ISAG 2010, June, Edinburgh UK, Poster

Rabbit transgenesis with Sleeping Beauty transposon system

Hoffmann O.I., Hiripi L., Kerekes A., Ivics Z., Izsvák Zs., Mátés L., Bősze Zs.

75th anniversary of Albert Szent-Györgyi's Nobel Price award, Szeged, 22-25 March, 2012

Homozygous transgenic rabbit line expressing Venus reporter gene created by Sleeping Beauty transposon system

Hoffmann O.I., Hiripi L., Ivics Z., Izsvák Zs., Mátés L., Bősze Zs.

CEELA, II.Közép- és Kelet-Európai Laborállat-tudományi Konferencia, Budapest, 2012. június 2.

6. Hazai konferencián bemutatott poszter

A nyúl neonatális Fc receptor génjének izolálása és jellemzése

Lemos A.P.C., **Hoffmann O.I.**, Hiripi L., Cervenák J., Kacskovics I., Bősze Zs.

VIII. Magyar Genetikai Kongresszus és XV. Sejt- és fejlődésbiológiai Napok, Nyíregyháza, 2009

A nyúl neonatális Fc receptor génjének izolálása és jellemzése

Lemos A.P.C., **Hoffmann O.I.**, Hiripi L., Cervenák J., Kacskovics I., Bősze Zs.

2. Gödöllői Állattenyésztési Tudományos Napok, Gödöllő, 2008

7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A dolgozatom elkészítéséhez szükséges kísérleteket a Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpontban végeztem, így köszönettel tartozom Dr. Kiss György Botond és Dr. Burgyán József főigazgató uraknak.

Köszönöm Dr. Bősze Zsuzsannának, aki az MKB Állatbiotechnológiai Intézetének igazgatójaként tudományos és anyagi segítséget nyújtott a munkámhoz.

Hálával tartozom témavezetőmnek, Dr. Hiripi Lászlónak, aki megalapozta tudásomat a molekuláris biológia és az állatbiotechnológia területein. Mindvégig öröm volt mellette dolgozni és elsajátítani mindazt a szakmai tudást, amelyre a munkám során szükségem volt.

További köszönettel tartozom. Dr. Gócza Elennek a dolgozatomban szereplő embriók mikroszkópos képeiért. Köszönöm Dr. Kvell Krisztiánnak és Czömpöly Tamásnak a lentivírus vektorok elkészítését. Szeretném megköszönni Dr. Izsvák Zsuzsannának és Dr. Ivics Zoltánnak a Sleeping Beauty transzpozon rendszer plazmidjait és a publikációk során nyújtott elengedhetetlen segítségüket.

Hálás köszönet illeti Dr. Mátés Lajost, akinek szakmai tanácsai nélkül jelen dolgozat nem készülhetett volna el.

A kísérleteimhez felhasznált állatok gondozásáért köszönettel tartozom állatgondozóinknak, Lengyel Lászlónénak, Basa Juditnak és Fülöp Lászlók, továbbá Dr. Bucsy László állatorvosnak. Külön köszönet illeti Kerekes Andreát, aki nélkülözhetetlen segítséget nyújtott a nyulak tenyésztésében. Továbbá köszönöm technikusainknak, Grófné Marikának és Galliné Györgynének a laboratóriumi eszközök gondos előkészítését.

Köszönöm az MBK és az MBK Állatbiotechnológiai Intézet összes tagjának azt a baráti hangulatot, amelyben mindvégig dolgozhattam, különösen Dr. Polgár Zsuzsannának, Iski Gergelynek és Kontra Leventének. Szeretném megköszönni Dr. Bender Balázsnak és Dr. Bodó Szilárdnak a kávé mellett nyújtott (nem csak) szakmai tanácsaikat.

Hálás köszönet illeti családom tagjait, akik támogatásukkal és biztatásukkal eljutattak idáig.

Munkámhoz anyagi hozzájárulást az OM-00118/2008 és a OTKA NK104397 pályázatok nyújtottak.