

**A VASFELVÉTELBEN SZEREPET JÁTSZÓ GÉNEK MOLEKULÁRIS  
JELLEMZÉSE OPPORTUNISTA PATOGÉN JÁROMSPÓRÁS  
GOMBÁKBAN**

**Nyilasi Ildikó**



Témavezetők:

Dr. Vágvolgyi Csaba, Tanszékvezető egyetemi docens

Dr. Papp Tamás, Egyetemi adjunktus

Biológia Doktori Iskola

Szegedi Tudományegyetem  
Természettudományi és Informatikai Kar  
Mikrobiológiai Tanszék

Szeged

2008

**Bevezetés**

A járomspórás gombák közül egyes fajok, mint zigomikózist okozó opportunistá patogének ismertek, melyek legyengült vagy immunszuppresszált betegeknél heves lefolyású és gyakran halálos kimenetelű fertőzéseket okozhatnak. A humán és állati zigomikózisok döntő többségét a *Rhizopus*, *Mucor*, *Absidia* és *Rhizomucor* fajok okozzák.

A zigomikózisok kialakulásának kockázata elsősorban cukorbetegség (különösen az ezzel összefüggésben fellépő ketoacidózis), továbbá orvosi beavatkozáshoz kapcsolódó immunszupresszió esetén nő meg. A hematológiai betegségek következtében kialakuló neutropénia szintén komoly rizikófaktora a disszeminált zigomikózisoknak. Az égési sérülések, illetve az extrém alultápláltság szintén kockázatot jelent és sajátos rizikócsoporthat képeznek a vaskomplexáló hatású gyógyszerekkel kezelt dialízises betegek.

A járomspórás gombák által okozott fertőzések aránylag ritkák, azonban a megbetegedések száma folyamatosan és párhuzamosan növekszik a fejlett orvosi technikák (szerv- és csontvelő átültetés, szteroid kezelés, kemoterápia) hatására többszörösére emelkedő, a fertőzésekre fogékony cukorbeteg és immunszuppresszált betegek számával. A magas mortalitási ráta (75–95 %) mellett, a diagnosztikai nehézségek és a fertőzéseket kiváltó kórokozók nagyfokú rezisztenciája a legtöbb gombaellenes hatóanyaggal szemben a fertőzések molekuláris hátterének részletesebb vizsgálatára ösztönöznek, továbbá új diagnosztikai módszerek és antifungális terápiák kidolgozását sürgetik. Jelenleg a molekuláris és szerológiai diagnosztikai módszerek kidolgozása még kísérleti stádiumban van, a lehetséges virulencia faktorok azonosítása és új terápiás célpontok keresése pedig mindössze néhány éve vette kezdetét.

Az elmúlt évek felismerése, hogy a zigomikózis kialakulásának kockázata jelentősen megnő a szérumban magas vas szintje esetén, illetve a vasat komplexként megkötő egyes hatóanyagokkal (pl. deferoxamin) kezelt betegeknél. Klinikai megfigyelések, illetve állatkísérletek alapján bebizonyították, hogy a járomspórás gombák hatékonyan képesek felvenni és hasznosítani a deferoxamin által megkötött vas ionokat és ez erőteljesen stimulálja növekedésüket (BOELAERT és mtsi. 1993). A vas megszerzése a gazdaszervezetben az egyik kulcsfontosságú lépés mind a baktériumok, mind a gombák által okozott fertőzések során. A humán szérumban a mikroorganizmusok számára hozzáférhető szabad vas mennyisége extrém alacsony, mivel annak nagy része a szérumban szállítófehérjéhez kötött. Ennek áthidalására a patogén mikroorganizmusok különböző mechanizmusokat fejlesztettek ki, melyek segítségével biztosítják a növekedésükhöz fontos vas megszerzését. A deferoxamin egy bakteriális eredetű, hidroxamát típusú sziderofór, amely képes komplexet képezni a szérumban lévő vas ionokkal. A vasfelvétel mechanizmusát radioaktívan jelölt deferoxaminnal vizsgálva arra a megállapításra jutottak, hogy a vas, a sejtbe történő felvétel előtt, extracellulárisan felszabadul a deferoxaminról (DE LOCHT és mtsi. 1994). A vas disszociációja a deferoxamin-vas komplexről egy redukzív lépést tartalmazó energiaigényes folyamat, a vas átjutása a sejtmembránon valószínűsíthetően a nagy-affinitású vaspermeáz segítségével valósul meg. A közelmúltban azonosították és klónozták a járomspórás *Rhizopus oryzae* nagy-affinitású vaspermeáz kódoló *ftr1* génjét (FU és mtsi. 2004) és igazolták, hogy a vashiány az *ftr1* gén expresszióját indukálja, míg elegendő vasforrás mellett az *ftr1* gén nem fejeződik ki. Az eddigi ismeretek a vas metabolizmus

és a vas felvételében szerepet játszó transzportfehérjék, különösen a nagy-affinitású vastranszport rendszer központi szerepét támasztják alá a járomspórás gombák által okozott fertőzések kialakulásában.

### Célkitűzések

A járomspórás gombák patogenitásának molekuláris vizsgálata, illetve a fertőzésben fontos szerepet betöltő virulencia faktorok tanulmányozása lehetővé teheti olyan célpontok azonosítását, amelyek új terápiás és diagnosztikai módszerek alapját képezhetik. A járomspórás gombafajok megbízható, fajszintű azonosítását biztosító módszerek kifejlesztése egyrészt a zigomikózisok epidemiológiájának jobb megértését szolgálja, másrészt a fertőzést okozó faj pontos megjelölésével, annak antifungális fogékonyságának ismeretében, segítséget nyújthatna a fertőzések eredményes kezelésében. A járomspórás gombák patogenitásának vizsgálatában a legnagyobb hátráltató tényezőt a genetikai módszerek korlátozott alkalmazhatósága jelenti. Ezért a patogenezis és a virulencia faktorok jellemzéséhez a jelenleginél hatékonyabb transzformációs rendszerek kidolgozása is szükséges.

Mindezeket figyelembe véve munkánk során a következő célokat fogalmaztuk meg:

1. A nagy-affinitású vaspermeáz kódoló *ftr1* génnel homológ genetikai elemek azonosítása, klónozása és összehasonlítása járomspórás gombákban.
2. Az *ftr1* génre alapozott, gyors és rutinszerűen alkalmazható diagnosztikai módszer kidolgozása.
3. A patogenitás hátterének vizsgálatához szükséges genetikai transzformációt lehetővé tevő szelekciós és transzformációs

rendszerek kidolgozása, valamint az *Agrobacterium tumefaciens* által közvetített transzformáció (ATMT) alkalmazhatóságának vizsgálata járomspórás gombákban.

4. Az izolált *ftr1* génre alapozott transzformáló vektorok alkalmazásával *ftr1* deléciós mutáns törzsek létrehozása.

Távlati cél: A nagy-affinitású vaspermeáz virulenciában betöltött szerepének vizsgálata.

### Alkalmazott módszerek

DNS alapú technikák:

- DNS tisztítása
- Polimeráz láncreakció (Inverz PCR, SON-PCR, TAIL-PCR)
- DNS fragmentumok klónozása
- DNS szekvenálás
- Plazmid konstrukciók létrehozása
- Baktériumok transzformációja
- Plazmid DNS tisztítása
- Southern hibridizáció

Nukleotid és aminosav szekvencia adatok elemzése:

- DNS szekvenciák ellenőrzése
- Nukleotid szekvenciák analízise, összehasonlítása, a nukleotid szekvenciákból származtatott aminosav szekvenciák megállapítása
- Nukleotid és aminosav szekvenciák illesztése
- Filogenetikai elemzés

Gombák genetikai transzformációja:

- Higromicin B rezisztencián alapuló szelekciós körülmények optimalizálása
- Protoplasztok képzése
- Integratív transzformálás polietilén-glikol (PEG) segítségével
- *Agrobacterium tumefaciens* közvetített transzformáció
- Monosporangialis telepek előállítása
- Mutánsdúsítás
- Fluoreszcens mikroszkópia

### Eredmények

**Nagy-affinitású vaspermeáz kódoló (*ftr1*) gének azonosítása és összehasonlítása különböző járomspórás gombákban** (NYILASI és mtsi. 2005b).

Munkánk során *Rhizopus oryzae* és *Candida albicans ftr1* génszekvenciák alapján tervezett degenerált primerek segítségével felszaporítottuk, klónoztuk és meghatároztuk 5 különböző nemzetségbe (*Rhizopus*, *Mucor*, *Backusella*, *Rhizomucor* és *Syncephalastrum*) tartozó 26 járomspórás gomba izolátum *ftr1* génjének részleges szekvenciáját. A felszaporított termékek mérete 585 és 740 bázis között változott. Az *ftr1* nukleotid és az azokból származtatott aminosav szekvencia adatokat az EMBL nukleotid szekvencia adatbázisba küldtük el.

Az általunk meghatározott nukleotid és az azokból származtatott aminosav szekvenciák alapján filogenetikai elemzést végeztünk. Az általunk készített törzsfák jó egyezést mutattak a 18S és 28S riboszómális DNS szekvenciák alapján készített törzsfákkal. Az eredmények alapján indokoltnak látjuk a járomspórás gombák jelenlegi, morfológiai karaktereken alapuló taxonómiai rendszerének felülvizsgálatát. Igazoltuk a *Rhizopus schipperae*, egy újonnan leírt termofil faj, és a *R. microsporus* var. *rhizopodiformis* közeli rokonságát, egyúttal megerősítettük a *R. schipperae* izolátumok külön fajként való kezelésének szükségét. Eredményeink alátámasztják a *R. niveus* külön fajként történő kezelésének indokoltságát is.

**Zigomikózisokat előidéző gombák diagnosztizálása az *ftr1* szekvenciák alapján** (NYILASI és mtsi. 2005c, NYILASI és mtsi. 2008b).

Kidolgoztunk egy diagnosztikai eljárást, amelynek segítségével

számos gyakorlati jelentőségű járomspórás gomba megbízhatóan azonosítható. A nagy-affinitású vaspermeáz kódozó *ptr1* génszekvenciák összehasonlításakor olyan karakterisztikus szekvencia részleteket azonosítottunk, amely régiókra tervezett primerekkel fajspecifikus amplifikációs termékek nyerhetők. Az általunk kidolgozott módszer alkalmas a *R. oryzae*, a *R. microsporus* var. *rhizopodiformis*, a *R. microsporus* var. *oligosporus*, a *R. schipperae*, a *R. niveus* és a *R. stolonifer* törzsek faj szintű elkülönítésére, míg a *Rhizomucor*, *Syncephalastrum* és *Mucor* izolátumok nemzetség szintjén azonosíthatók.

A vizsgált fajok elkülönítését PCR-RFLP alkalmazásával is megvalósítottuk: a degenerált primerekkel felszaporított fragmentumok *AluI* restrikciós enzimmel történő emésztése a különböző fajok esetében karakterisztikus RFLP-mintázatot eredményezett. Az *ptr1* génen alapuló specifikus PCR-ral nem megkülönböztethető *Mucor* fajok PCR-RFLP segítségével három csoportra oszthatók, a *R. miehei* és *R. pusillus* fajok pedig faj szinten elkülöníthetők. A *R. oryzae* és a *R. stolonifer* izolátumok PCR-RFLP segítségével faj alatti szinten is azonosíthatók.

#### ***Rhizomucor miehei* és *Rhizomucor pusillus* nagy-affinitású vaspermeáz génjének izolálása és jellemzése** (NYILASI és mtsi. 2005d).

*R. miehei* és *R. pusillus* fajok esetén az ismert génszakaszra tervezett specifikus primerek segítségével inverz PCR és SON-PCR módszerekkel meghatároztuk az *ptr1* gén teljes szekvenciáját és szekvencia adatokat nyertünk a gén további, nem kódozó részéről is. A transzport fehérjét kódozó gént izoláltuk és jellemeztük. A felderített szekvencia *R. miehei* esetén 2671 bp, *R. pusillus* esetén pedig 2253 bp hosszúságú. Az intronokkal együtt a *R. miehei ptr1* gén 1270 bp, míg a *R. pusillus ptr1* gén

1280 bp hosszúságú. Mindkét *ptr1* gén kódozó szakaszának hossza 1149 bp, amelyek 382 aminosavból álló fehérjét határoznak meg. A gének kódozó szekvenciája mellett egy 646 bp (*R. miehei*) és egy 470 bp (*R. pusillus*) hosszúságú promóter, illetve egy 755 bp (*R. miehei*) és egy 503 bp (*R. pusillus*) hosszúságú terminális régiót is meghatároztunk. A teljes *ptr1* szekvenciákat az EMBL nukleotid szekvencia adatbázisba helyeztük el.

A *R. miehei* és a *R. pusillus ptr1* gének szabályozó régióiban megtalálható konszenzus szekvenciákat szintén azonosítottuk és vizsgáltuk a gének kodon használatát is. Ez alapján azt a következtetést vontuk le, hogy az *ptr1* gének nem konstitutívan fejeződnek ki. Ezt támasztják alá a promóter régióban azonosított GATA elemek is.

A *R. miehei* és *R. pusillus ptr1* gének nukleotid szinten 86 %-ban, míg aminosav szinten 90 %-ban megegyeztek. Az *ptr1* génekben lévő intronok, illetve a promóter és terminális régiók között nem találtunk homológiát, azonban az intronok pozíciója a két faj esetén megegyezett. A feltételezett *R. miehei* és *R. pusillus* FTR1 fehérje szekvenciák N-terminális és középső régiója nagyfokú homológiát mutatott más, nemzetközi adatbázisokban megtalálható gomba FTR1 fehérjékkel, míg a C-terminális régió variábilisnak bizonyult.

#### **A patogenitás hátterének vizsgálatához szükséges szelekciós és transzformációs rendszerek kidolgozása** (NYILASI és mtsi. 2005a, NYILASI és mtsi. 2008a).

A patogenitás hátterének és a nagy-affinitású vaspermeáz virulenciában betöltött szerepének vizsgálatához különböző szelekciós és transzformációs rendszereket teszteltünk. Kidolgoztunk egy, a járomspórás gombáknál alkalmazható higromicin B rezisztencián alapuló direkt

szelekciós módszert. A diklorán és bengálvörös kombinációjával kiegészített YEG táptalaj alkalmas volt a higromicin B rezisztens *Mucor* transzformánsok izolálására. A bengálvörös és a diklorán nemcsak a telepek méretét és az aeriális hifák termelését csökkentette, hanem megnövelte a gomba higromicin B-vel szembeni érzékenységét is.

A higromicin B rezisztencián alapuló szelekció alkalmazásával megvalósítottuk a *M. circinelloides Agrobacterium tumefaciens* által közvetített transzformációját (ATMT). Az ATMT eljárását optimalizáltuk, majd a módszert alkalmaztuk más járomspórás gombákra is (*Backusella lamprospora*, *R. pusillus*).

Az ATMT során nyert transzformáns *Mucor* izolátumok esetében PCR analízissel igazoltuk a *hph* gén jelenlétét a transzformánsok genomi DNS-ében, hibridizációs analízissel pedig igazoltuk, hogy a T-DNS mindegyik transzformáns genomjába egy kópiában és véletlenszerű helyekre épült be.

*A. tumefaciens* Ti plazmidján alapuló vektorkonstrukciókat hoztunk létre, amelyekben a transzformálni kívánt gének kifejeződését *M. circinelloides gpd1* promóter és terminális régiói biztosították. A szelekciót biztosító *hph* gén mellett a *gfp* gént is beépítettük a pNY18 vektorba, amelynek expressziója lehetővé tette a transzformáció direkt bizonyítását.

Kísérleteink során a *hph* és *gfp* géneket ATMT-vel bejuttattuk a *B. lamprospora* genomjába. PCR analízissel igazoltuk a *hph* és *gfp* gének jelenlétét a transzformánsok genomi DNS-ében. A bevitt gének felszaporítása közvetlenül a transzformáns izolátumok spóráiból is lehetséges volt. A higromicin B rezisztens transzformánsok által mutatott intenzív fluoreszcencia igazolta, hogy a *M. circinelloides gpd1* gén

szabályozó régiói képesek a bejuttatott heterológ gén transzkripcióját biztosítani.

A közeljövőben tervezzük az uracil auxotróf *M. circinelloides A. tumefaciens* közvetített transzformálásának megvalósítását is, célunk a bejuttatott endogén és exogén gének stabilitásának vizsgálata, illetve a transzformáció és az integráció utáni folyamatok tanulmányozása. A transzformációs kísérletekhez elkészítettük az *Agrobacterium* Ti plazmidján alapuló, a *M. circinelloides* orotidin-5'-monofoszfát dekarboxiláz (*pyrG*) génjét, illetve a *pyrG* és *gfp* géneket tartalmazó vektorokat.

Kidolgoztunk egy genetikai transzformációt lehetővé tévő uracil auxotrófián alapuló szelekciós rendszert is és létrehoztunk egy orotidin-5'-monofoszfát dekarboxiláz kódoló *pyr4* mutáns *R. pusillus* törzset, melyet az *ptr1* gén elrontásához használtunk fel.

#### **Az izolált *ptr1* génre alapozott transzformáló vektorok elkészítése és *ptr1* deléciós mutáns *R. pusillus* törzsek létrehozása**

A transzporter enzim patogenitásban betöltött szerepének vizsgálatához az általunk azonosított és izolált *ptr1* gén szekvencia alapján a gén elrontását lehetővé tevő vektorokat állítottunk elő, melyek az *ptr1* génbe inszertálva tartalmazták a szelekciót biztosító *pyr4* marker gént. A deléciós vektorok alkalmazásával megvalósítottuk a *R. pusillus* ATMT transzformációját. Az *ptr1* gén elrontásának bizonyítása jelenleg folyamatban van. Az *ptr1* deléciós mutáns *R. pusillus* törzseket szisztémás fertőzést modellező egér kísérletekben szeretnénk felhasználni a nagy-affinitású vaspermeáz virulenciában betöltött szerepének megállapításához.

## Összefoglalás

Eredményeink összefoglalásaként elmondhatjuk, hogy:

1. Felszaporítottuk, klónoztuk és meghatároztuk 5 különböző nemzetségbe tartozó 26 járomspórás gomba izolátum *ptr1* génjének részleges szekvenciáját.
2. Az általunk meghatározott nukleotid és az azokból származtatott aminosav szekvenciák alapján tanulmányoztuk opportunistá patogén gombatörzsek filogenetikai viszonyait.
3. A nagy-affinitású vaspermeázó kódoló *ptr1* nukleotid szekvenciák alapján PCR alapú diagnosztikai módszereket dolgoztunk ki járomspórás gombák azonosítására.
4. *R. miehei* és *R. pusillus* fajok esetén inverz PCR és SON-PCR módszerrel meghatároztuk az *ptr1* gének teljes szekvenciáját és szekvencia adatokat nyertünk a géneket határoló nem kódoló szakaszokról is.
5. Kidolgoztunk egy, a járomspórás gombáknál alkalmazható higromicin B rezisztencián alapuló direkt szelekciós módszert a transzformánsok izolálására.
6. A higromicin B rezisztencián alapuló szelekció alkalmazásával megvalósítottuk a *M. circinelloides Agrobacterium tumefaciens* által közvetített transzformációját. Az ATMT eljárását optimalizáltuk, majd a módszert más járomspórás gombákra is alkalmaztuk (*B. lamprospora*, *R. pusillus*).
7. PCR és hibridizációs analízissel igazoltuk a bejuttatott gének jelenlétét a transzformánsok genomjában.
8. *A. tumefaciens* Ti plazmidján alapuló vektorkonstrukciókat hoztunk létre.
9. Létrehoztunk egy orotidin-5'-monofoszfát dekarboxilázó kódoló *ptr4* mutáns *R. pusillus* törzset.
10. Az izolált *ptr1* génre alapozott transzformáló vektorokat készítettünk, melyekkel megvalósítottuk a *R. pusillus* ATMT transzformációját.

## A dolgozat alapját képező közlemények:

**Nyilasi I**, Papp T, Takó M, Nagy E and Vágvölgyi Cs (2005) Iron gathering of opportunistic pathogenic fungi. *Acta Microbiol Hung.* 52: 185-197.

**Nyilasi I**, Ács K, Papp T, Vágvölgyi Cs (2005a) *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of *Mucor circinelloides*. *Folia Microbiol* 50: 415-420.

**Nyilasi I**, Papp T, Csernetics Á, Vágvölgyi Cs (2008a) *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of the zygomycete fungus, *Backusella lamprospora*. *J Basic Microbiol* 48: 59-64.

**Nyilasi I**, Papp T, Csernetics Á, Krizsán K, Nagy E, Vágvölgyi Cs (2008b) High-affinity iron permease (*FTR1*) gene sequence-based molecular identification of clinically important Zygomycetes. *Clin Microbiol Infect* 14: 393-397.

## A dolgozat témájához kapcsolódó poszterek:

**Nyilasi I**, Ács K, Lukács Gy, Papp T, Kasza Zs, Vágvölgyi Cs (2003) *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of *Mucor circinelloides*. *FEMS Microbiol Lett* 222 (S1): 458.

**Nyilasi I**, Ács K, Lukács Gy, Papp T, Kasza Zs, Vágvölgyi Cs (2003) *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of *Mucor circinelloides*. 5th Congress of the Hungarian Society for Genetics, Siófok, Abstracts 144-145.

**Nyilasi I** (2004) Investigation of the applicability of the *Agrobacterium*-mediated transformation in Zygomycetes. *Acta Biol Szeged* 48: 73.

**Nyilasi I**, Galgóczy L, Papp T, Nagy E, Vágvölgyi Cs (2005b) Sequence comparison of high-affinity iron permeases (*FTR1*) from different zygomycetous fungi. *FEBS J* 272: (S1) 108.

**Nyilasi I**, Papp T, Takó M, Nagy E, Vágvölgyi Cs (2005c) Identification of biotechnologically important *Rhizopus* strains on the basis of high affinity iron permease (*FTR1*) sequences. *J Biotech* 118: (S1) 154.

**Nyilasi I**, Papp T, Lukács Gy, Nagy E, Vágvölgyi Cs (2005d) Cloning and sequence analysis of the high affinity iron permease (*FTR1*) gene from *Rhizomucor miehei*, a basis for functional analysis. *Mycoses* 48: (S2) 75.

**Nyilasi I**, Papp T, Lukács Gy, Nagy E and Vágvolgyi Cs (2006) Cloning and partial sequence analysis of the *Rhizomucor miehei* high affinity iron permease (FTR1) gene. Acta Microbiol Hung 53: 233-234.

**Nyilasi I**, Papp T, Nagy E and Vágvolgyi Cs (2006) Applicability of the *Agrobacterium*-mediated transformation in *Zygomycetes*. Acta Microbiol Hung 53: 324-325.

**Nyilasi I**, Papp T, Csernetics Á, Nagy E and Vágvolgyi Cs (2006) Differentiation of zygomycetous strains on the basis of high affinity permease (*FTR1*) sequences. ECFG-8, Vienna, Austria, Abstracts 416.

**Nyilasi I**, Papp T, Csernetics Á and Vágvolgyi Cs (2008) *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation: a new technique for genetic modification of *Zygomycetes*. Acta Microbiol Hung 55: 228-229.

#### **Egyéb közlemények:**

Vágvolgyi Cs, Kasza Zs, **Nyilasi I**, Ács K and Papp T (2001) Variability of isozyme and RAPD markers among isolates of *Mucor genevensis*. Acta Biol Hung 52: 365-373.

Papp T, **Nyilasi I**, Fekete Cs, Ferenczy L and Vágvolgyi Cs (2001) Presence of double-stranded RNA and virus-like particles in *Rhizopus* isolates. Can J Microbiol 47: 443-447.

Papp T, Ács K, **Nyilasi I**, Nagy E and Vágvolgyi Cs (2003) Phylogenetic relationships of the genus *Gilbertella* and related genera within the order Mucorales based on 5.8 S ribosomal DNA sequences. Acta Biol Hung 54: 393-402.

Lukács Gy, Papp T, **Nyilasi I**, Nagy E and Vágvolgyi Cs (2004) Differentiation of *Rhizomucor* species on the basis of their different sensitivities to lovastatin. J Clin Microbiol 42: 5400-5402.

Lukács Gy, Takó M and **Nyilasi I** (2006) Pulsed-field gel electrophoresis: a versatile tool for analysis of fungal genomes. Acta Microbiol Hung 53: 95-104.

Lukács Gy, Linka B and **Nyilasi I** (2006) *Phaffia rhodozyma* and *Xanthophyllomyces dendrorhous*: astaxanthin-producing yeasts of biotechnological importance. Acta Alimentaria 35: 99-107.

Papp T, **Nyilasi I**, Csernetics Á, Galgóczy L, Vágvolgyi Cs (2008) Molecular studies on *Zygomycetes* fungi causing opportunistic infections. Rev Med Microbiol (invited review, accepted).

#### **Egyéb konferenciaszereplések:**

Vágvolgyi Cs, Papp T, Fekete Cs, **Nyilasi I** and Ferenczy L (2000) Double-stranded RNA molecules and virus-like particles in *Rhizopus* strains. ECFG-5, Arcachon, France, Abstracts 336.

Papp T, **Nyilasi I**, Ács K, Vastag M and Vágvolgyi Cs (2000) Taxonomic position of *Gilbertella persicaria* based on glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene and nuclear ribosomal-dna sequence data. 1<sup>st</sup> Joint Meeting of the Slovenian Society for Microbiology and the Hungarian Society for Microbiology, Keszthely, Hungary. Abstracts.

Lukács Gy, Ács K, Vastag M, **Nyilasi I**, Kasza Zs and Vágvolgyi Cs (2002) Cloning and partial sequence analysis of the gene encoding 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase of *Rhizomucor miehei*. Congress of the Hungarian Society for Microbiology, Balatonfüred, Hungary. Abstracts.

**Nyilasi I**, Papp T, Heinrich H, Lukács Gy and Vágvolgyi Cs (2002) Identification of mating-type-specific markers in *Gilbertella persicaria*. Acta Microbiol Hung 49: 404-405.

Ács K, **Nyilasi I**, Papp T and Vágvolgyi Cs (2003) Development of new vector systems for transformation of *zygomycetes*. FEMS Microbiol Lett 222 (S1): 452.

Ács K, **Nyilasi I**, Lukács Gy, Kasza Zs, Papp T and Vágvolgyi Cs (2003) New transformation approaches for *zygomycetes*. 14<sup>th</sup> Int C Hung Soc Microbiol Balatonfüred, Hungary, Abstracts.

**Nyilasi I**, Papp T, Ács K and Vágvolgyi Cs (2003) Comparison of ITS sequences among the genus *Gilbertella* and some related genera of the Mucorales. 14<sup>th</sup> Int C Hung Soc Microbiol Balatonfüred, Hungary, Abstracts.

Lukács Gy, **Nyilasi I**, Papp T, Somogyvári F, Nagy E and Vágvolgyi Cs (2004) Rapid differentiation of *Rhizomucor* species with the aid of a lovastatin-containing medium. Congress of the Hungarian Society for Microbiology, Keszthely, Hungary, Abstracts.

Vágvölgyi Cs, Lukács Gy, **Nyilasi I** and Papp T (2004) Development of a lovastatin resistance-based transformation system for *Rhizomucor miehei*. Clin Microbiol Infect 10 (S3): 507.

Lukács Gy, Ács K, Vastag M, **Nyilasi I**, Kasza Zs and Vágvölgyi Cs (2004) Cloning and partial sequence analysis of the gene encoding 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase of *Rhizomucor miehei*. Acta Microbiol Hung 51: 125.

Papp T, Csernetics Á, **Nyilasi I**, Nagy E and Vágvölgyi Cs (2005) Comparison of phospholipase D sequences from clinically important *Candida* species. Mycoses 48 (S2): 75.

Linka B, Papp T, **Nyilasi I**, Vágvölgyi Cs (2006) Cloning and molecular analysis of the catalase 1 gene from the opportunistic pathogen *Rhizopus oryzae*. Acta Microbiol Hung 53: 310.

Vágvölgyi Cs, Takó M, Linka B, **Nyilasi I**, Nagy E and Papp T (2006) Comparison of *Candida* species on the basis of their phospholipase D sequences. ECFG-8, Vienna, Austria, Abstracts 427.

#### Szabadalom

Vágvölgyi Cs, Papp T, **Nyilasi I**, Pesti M, Lukács Gy (2008) *Gombaellenes hatóanyagot és sztatint tartalmazó kombinációs készítmények és alkalmazásuk*. Szabadalmi bejelentés. M.Sz.H. P0800305 (2008. május 9.) Szabadalmi Közlöny és Védjegyértesítő 113(7): 241.

#### Társszerzői nyilatkozat

Kijelentjük, hogy Nyilasi Ildikó szerepe meghatározó jelentőségű volt a

**Nyilasi I**, Papp T, Takó M, Nagy E and Vágvölgyi Cs (2005) Iron gathering of opportunistic pathogenic fungi. Acta Microbiol Hung. 52: 185-197.

**Nyilasi I**, Ács K, Papp T, Vágvölgyi Cs (2005a) *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of *Mucor circinelloides*. Folia Microbiol 50: 415-420.

**Nyilasi I**, Papp T, Csernetics Á, Vágvölgyi Cs (2008a) *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of the zygomycete fungus, *Backusella lamprospora*. J Basic Microbiol 48: 59-64.

**Nyilasi I**, Papp T, Csernetics Á, Krizsán K, Nagy E, Vágvölgyi Cs (2008b) High-affinity iron permease (*FTRI*) gene sequence-based molecular identification of clinically important Zygomycetes. Clin Microbiol Infect 14: 393-397.

címmel megjelent közleményekben, így az értekezésben és a publikációkban közölt eredményeket tudományos fokozat (Ph.D.) megszerzésére nem használtuk fel és ezt a jövőben sem fogjuk tenni.

Szeged, 2008. szeptember 23.

Dr. Vágvölgyi Csaba

Prof. Dr. Nagy Erzsébet

Dr. Papp Tamás

Dr. Ács Klára

Takó Miklós

Csernetics Árpád

Krizsán Krisztina