

DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**Szimbiotikus eredetű antimikrobiális peptidek hatása
Sinorhizobium meliloti baktériumokra**

Tiricz Hilda Anikó

Témavezető: Dr. Kereszt Attila
MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont
Biokémia Intézet

Biológia Doktori Iskola
Szegedi Tudományegyetem TTIK

2013.

BEVEZETÉS

A pillangósvirágúak (Fabaceae/Leguminosae) családjába tartozó növények különleges sajátossága, hogy endoszimbionta *Rhizobium* baktériumokkal (*Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium* fajok) képesek nitrogénkötő szimbiózist kialakítani, melynek során egy új növényi szerv, a gyökérgümő jön létre. A gümőben élő bakteroidok valójában átalakult *Rhizobium* baktériumok, melyek megváltozott anyagcsere aktivitása képessé teszi őket a légköri nitrogén hatékony megkötésére, ammoniává történő átalakítására, mely a partnernövény számára felvehető és hasznosítható tápanyagforrás.

Morfológiai és fejlődéstani szempontból kétféle fő gümő típust különböztetünk meg. Ezek a determinált és indeterminált gümők, melyek között a legszembevetőbb különbség a folyamatosan működő merisztéma hiánya, vagy annak megléte. Míg a determinált, nitrogénkötő gümők homogén szerkezetűek, addig az indeterminált típusú, érett gümő felépítése fejlődési zónákra tagolható. Ezek a merisztematikus (I.) zóna, az infekciós (II.) zóna, az átmeneti (II-III.) zóna, a nitrogénkötő (III.) zóna és az öregedő vagy szeneszcens (IV.) zóna. A Galegoid klád tagjaiban, mint a lucerna, a borsó és a lóhere, az endoszimbionta baktériumok egy terminális differenciálódáson mennek keresztül, megtartva aktív anyagcseréjüket és a képességet a DNS szintézisére, ugyanakkor az egymást követő sejtosztódások elmaradása a DNS tartalom megnövekedését, 24 vagy annál is több kópia genomot eredményez (poliploidia). A megnövekedett sejttartalom mellett az alakjuk is jelentősen megváltozik, kialakítva a hosszúkás, néha Y alakban elágazó sejtformát. Átlagosan 5-10 µm hosszúak, vagyis ötször-tízszer hosszabbak az átalakult baktériumok a szabadon élő társaiknál. A folyamat során a bakteroid membránjának áteresztő képessége jelentősen megnő, melynek következtében több és többféle molekula számára válik átjárhatóvá. Azok a növényi faktorok, amelyek felelősek a baktériumok bakteroiddá történő átalakulásáért jelen vannak a Galegoid klád (*Medicago*, *Pisum*, *Vicia*) tagjaiban, ugyanakkor hiányoznak a nem Galegoid klád növényeiből (*Lotus japonicus*).

Csoportunk a francia Institut des Sciences du Végétal (CNRS) egyik kutatócsoportjával együttműködve megállapította, hogy a gümő-specifikus cisztein gazdag peptidok (NCR), melyek a gümő transzkriptóma körülbelül 5%-át alkotják, azok a faktorok, melyek felelősek a bakteroid átalakulásért a Galegoid klád tagjainál.

Az *NCR* géncsalád tagjai által kódolt faktorok közös tulajdonsága az expressziójuk a kizárólag a baktériumok által fertőzött sejtekben, egy az érett peptid szekrécióját biztosító konzervált szignál peptid, valamint kettő vagy három diszulfid híd, melyek stabilizálják a kis méretű peptideket szerkezetét. Az *NCR*-ek aminosav összetétele rendkívül különböző, így töltésük alapján lehetnek anionos, neutrális és kationos tulajdonságúak. A kis méretű *NCR* gének általában két exonból állnak: az első kódolja a viszonylag konzervált szignálpeptidet, míg a második rész az érett aktiv peptid termelésért felelős. Korábban kimutattuk, hogy egyes *Medicago* peptidek akadályozzák a szimbiotikus partner, a *Sinorhizobium meliloti* szaporodását illetve túlélését *in vitro*.

CÉLKITŰZÉSEK

1. Tizennégy különböző izoelektromos ponttal (pI) rendelkező (anionos, neutrális és kationos típusú) *NCR* peptid hatásának vizsgálata *S. meliloti*1021 szabadon élő baktérium kultúráján.
2. A legrövidebb és eddig a leginkább tanulmányozott *NCR*247, valamint a legkationosabb *NCR*335 peptid részletesebb vizsgálata:
 - Az antimikrobiális hatás tanulmányozása egyéb, nem *Rhizobium* baktériumokon: Gram-negatív, Gram-pozitív, emberi/állati és növényi patogéneken.
 - A *S. meliloti* 1021 törzs teljes, expresszált genom szintű vizsgálata a két *NCR* peptid hatására, új-generációs szekvenálási technika (NGS) alkalmazásával, s ezzel az *NCR*-ek által kiváltott génexpressziós változások felderítése és annak tisztázása, hogy mik lehetnek a sejt korai válaszai az *NCR* kezelésekre.

ALKALMAZOTT MÓDSZEREK

Baktérium törzsek és növekedési körülményeik

A baktériumokat szilárd LB lemezen vagy folyékony táptalajban növesztettük: a *S. meliloti strain 1021*, *Listeria monocytogenes*, *Xanthomonas campestris*, *Clavibacter michiganensis*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Pseudomonas aeruginosa*, és *Pseudomonas syringae* törzseket 30 °C-on, míg az *Enterococcus faecalis*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus megaterium* és *Bacillus cereus* fajokat 37 °C-on.

Az NCR peptidek *in vitro* hatásainak mérése

Az OD₆₀₀=0,1-ig növesztett patogén és nem patogén baktériumokat kezeltük kémiai szintetizált érett NCR peptidekkel NCR335 és NCR247 peptiddel valamennyi általunk vizsgált baktériumot, míg az NCR137, NCR192, NCR035, NCR055, NCR57, NCR084, NCR229, NCR224, NCR235, NCR051, NCR095, NCR168 peptideket kizárólag *S. meliloti 1021* törzsön teszteltük), hogy megvizsgáljuk azok baktericid hatását. A baktérium szuszpenziókat különböző koncentrációjú peptidekkel és különböző időtartamokig kezeltük, majd meghatároztuk a túlélő sejtek számát.

Propídium jodid (PI) tesztben vizsgáltuk az NCR peptidek által okozott membrán permeabilitás változást. A baktériumot FLUOTRAC 200 (Greiner Bio-One) microtiter plate-ban kezeltük µg/ml PI jelenlétében. A baktériumok által felvett PI fluoreszcenciáját (530nm excitáció, 600nm emisszió) FLUOstar OPTIMA (BMG Labtech) készülékkel detektáltuk.

RNS minta tisztítása

A szekvenáláshoz *S. meliloti 1021* önálló telepekből kiindulva három biológiai párhuzamost növesztettünk. Az LSM folyékony tápoldatban 30°C-on növesztett „starter” kultúrákat 40-40 ml végtérfogatra hígítottuk. Nyolc óra inkubálást követően a 40 ml log fázisú sejt kultúrát OD₆₀₀=0,01-re hígítottuk 400 ml végtérfogatban, majd OD₆₀₀=0,1-ig növesztettük (Növekedési görbe LSM tápoldatban 1B. függelék). A három párhuzamos növesztésből 40-40 ml baktériumot kezeltünk 10 µg/ml végkoncentrációra számított NCR247, illetve NCR335 peptidekkel. A kezeléseket követően, teljes RNS-t izoláltunk RiboPure Bacteria Kit (Ambion) használatával. A mintánkban maradt DNS eltávolítása RQ1 RNase-Free DNase (PROMEGA) enzimmel történt.

Transzkriptom analízis RNS szekvenálással (RNAseq)

A könyvtár készítése előtt a rRNS-t Ribo-Zero™ rRNA Removal Kit for Gram-Negative Bacteria (Epicentre) segítségével eltávolítottuk. A könyvtár készítés és a szekvenálás SOLiD4 szekvenáló berendezésben (Life Technologies) történt. Általában 20-25 millió 50 nukleotid hosszú leolvasási egységeket kaptunk mintánként. Ezeket térképeztük vissza *S. meliloti* genomra az adatok kiértékeléséhez.

Bioinformatikai analízis

A szekvenálás során kapott átlagosan 50 nukleotid hosszúságú leolvasásott szekvenciákat CLC Genomics Workbench 5.1 szoftver használatával térképeztük vissza az NCBI akkor elérhető legfrissebb *S. meliloti 1021* referencia szekvenciájához. A manapság alkalmazott legjobb minőségű előregyártott molekuláris eszközök használata sem teszik lehetővé a tökéletes rRNS kivonást a rendszerből. Ennek az a következménye, hogy a leolvasott DNS fragmentek egy része számunkra értéktelen információt hordoz. Ezek végleges eltávolítására bioinformatikai úton van lehetőségünk. Az rRNS szekvenciák mellett a tRNS-t és transzpozonokat kódoló szekvenciákat is elkülönítettük. Továbbá valamennyi kezelt mintára vonatkozóan eltávolítottuk azokat a géneket, amelyek alacsony fragment számmal ($10 \geq$) voltak jelen a mintáinkban. Az adatok könnyebb feldolgozását segítette, hogy a leolvasásokat 1:1 millió-ra vonatkoztattuk (leolvasott egységek száma/1 millió leolvasott egység száma), amit 1 kb-nyi génhosszra vonatkoztattunk, hogy elkerüljük a gének hosszából adódó különbségeket (RPKM).

Szekvenálás validálása qRT-PCR-el

A szekvenálási adatok validálása qRT-PCR reakcióval történt. A kísérletben használt templátok a különböző NCR kezeléseket követően három biológiai párhuzamosból tisztított egyedi RNS mintákat tartalmazták. Első lépésben az RNS mintákból cDNS-t írtunk reverz transzkripcióval (High Capacity cDNA Reverse transcription Kit/ABI), majd az egyedi mintákat két-két technikai párhuzamos készítésével mértük. Ezek mérési átlagát (C^T Mean) használtuk az adott génre vonatkozó mennyiségek meghatározáshoz. A szekvenálás ellenőrzésére kiválasztott géneket, a reakciókban használt primerek szekvenciáival a 4. táblázat tartalmazza. Az egyes gének mintánként mért expresszióját a 16S rRNS szintekhez viszonyítottuk, ez volt a számolásoknál használt úgynevezett belső kontroll.

EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

A defenzinokkal mutatott hasonlóságok miatt megvizsgáltuk 14 különböző NCR molekula *ex planta* hatását CFU tesztben szabadonélő *S. meliloti 1021* baktériumon, melyek izoelektromos pontjuk alapján a peptidcsalád széles skáláját reprezentálták (pI 3,61-11,22). Kísérleteink megerősítették azt a feltételezést, hogy az NCR peptidek egy jól körülírható csoportja, a kationos tulajdonságú NCR molekulák antimikrobiális hatással rendelkeznek *in vitro*.

Az antimikrobiális hatás további tanulmányozásához kiválasztottunk a csoportból kettőt, melyeket további vizsgálatoknak vetettünk alá. Az NCR247 és NCR335, két erősen kationos NCR peptid hatását CFU tesztben vizsgáltuk különböző Gram-pozitív (*Bacillus megaterium*, *Bacillus cereus*, *Clavibacter michiganensis*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*) és Gram-negatív (*Sinorhizobium meliloti*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Xanthomonas campestris*) baktériumokon. A vizsgált baktériumok többsége valamelyik kezelés hatására teljesen elpusztult. A CFU teszt alapján tehát mindkét alkalmazott peptid antimikrobiális (AMP) hatásának bizonyult *in vitro*.

Míg az AMP típusú molekulákról tudjuk, hogy főleg a membránon és a transzlációs apparátuson keresztül fejtik ki romboló hatásukat, addig az NCR peptidek hatásmechanizmusa ezidáig tisztázatlan maradt. A további kísérletekhez a szimbiotikus *Rhizobiális* partnert, az *S. meliloti 1021* baktériumot választottuk, hogy tanulmányozzuk az NCR peptidek antimikrobiális hatására bekövetkező génexpressziós változásokat. Az optimális kísérleti körülmények kiválasztásához megvizsgáltuk mindkét NCR molekula dózis-hatás függését és sejtölő aktivitását CFU tesztben két órás kezelésben 10 µg/ml, 20 µg/ml, 50 µg/ml peptid alkalmazása mellett. Propídiium-jodid (PI) tesztben igazoltuk a növekvő peptid koncentrációk által az 5 µg/ml, 10 µg/ml, 20 µg/ml, 50 µg/ml-nél időfüggően bekövetkező (10 perc, 30 perc, 120 perc) membránáteresztő képesség növekedését. Az NCR247 és NCR335 peptidek 20 µg/ml és 50 µg/ml koncentrációknál kimagaslóan sejtölő hatásúnak bizonyultak. Ezekben a mintákban a két órás kezelést követően magas PI felvételt mértünk fluorométerrel, ami a sérült membrán áteresztőképességének növekedését és a nagyarányú sejtpusztulást jelezte. Még a 10 µg/ml-es peptid végkoncentráció is 90%-os sejtpusztulást eredményezett két órás kezelésben, azonban a kezelési idő csökkentése 10-, illetve 30 percre, jelentősen mérsékelte a peptidek antimikrobiális (AMP) hatását.

Az NCR247 és NCR335 peptidek által indukált génexpressziós változások

vizsgálataihoz RNS szekvenálást terveztünk (SOLiD4 Life Technologies rendszert alkalmazva) a peptideket termelő *M. truncatula* természetes körülmények között kölcsönható szimbiotikus partnerén, *S. meliloti* 1021 sejteken, olyan alacsony peptidkoncentrációt (10 µg/ml) és kezelési időtartamot választva (10 perc, 30 perc), melyeknél megfigyelhettük a baktérium sejtek korai válaszát, a sejtek jelentős pusztulása nélkül.

A peptid kezeléseket követően az *S. meliloti* 1021 genom mintegy 14%-a mutatott génexpressziós szinten a kétszeres határértéket meghaladó változást. Az NCR335 peptid hatására több gén expressziója változott jelentős mértékben (319 gén expressziója csökkent és 418 gén expressziója nőtt) mint az NCR247 esetén (153 gén expressziója csökkent és 242 gén expressziója nőtt)

Ha a két peptid általános indukáló és represszáló hatásait vizsgáljuk akkor az alábbi megállapításokat tehetjük. A csökkent expresszióval jellemezhető gének legnagyobb csoportja a genetikai információs folyamatok része. A transzkripció folyamatokat érinti például az RNS-polimeráz alegységeket kódoló, a transzkripció terminátor és az antiterminációs fehérjéket kódoló gének csökkent működése. A transláció iniciációs faktorok (IF-1,2,3), az elongációs faktorok (*efG*, *efP*, *efTu1*, *efTu2*, *efTs*) és majdnem az összes riboszóma asszociált fehérjét kódoló gén és alegység, valamint a riboszóma biogenezishez kapcsolódó egyes gének expressziója szintén csökkent a kezelések hatására. Az RNS konformáció módosítást és az RNS molekulák érését végző proteinek, vagyis egyes ATP-függő RNS helikázok, ribonukleázok, polinukleotid foszforilázok expressziója ugyancsak csökkent. A foszfát-csoportok cseréjét katalizáló nukleotid-difoszfát kináz, szintén csökkent génaktivitást mutatott az NCR peptidekkel kezelt mintákban. A másik nagy csoport, melyben nagy számú gén működése negatívan érintett, az oxidatív foszforiláció és a zsírsav bioszintézis. Ide tartoznak az ATP-szintetáz elemeit, a citokróm bc₁ komplexet kódoló transzkripció egységek és további hat gén, melyek a zsírsav bioszintézis enzimeit kódolják. Nagyszámú ABC transzporter, köztük a kadmium, spermidin/putrescin export elemek szintézise szintén gátlás alá kerültek a kezelések hatására.

A magasabb mRNS szintet mutató gének közül több a stressz-válaszhoz kapcsolható, így például markáns expressziós növekedés figyelhető meg a különböző hősokk fehérjéket kódoló gének között. A különböző ATP-függő proteázokat kódoló gének szintén indukálódtak. A transzkripció regulátorok csoportjában mintegy 24 gén, a membrán transzport folyamatokhoz kapcsolódóan pedig 42 gén mRNS szintje nőtt meg a vizsgált NCR peptidkezelések hatására.

A növényi eredetű NCR peptidek, melyek a bakteroidok terminális differenciálódását szabályozzák a szimbiotikus sejtekben, antimikrobiális *in vitro* aktivitása számos hasonlóságot mutat az AMP típusú molekulák által kiváltott hatásokhoz. Befolyással vannak a sejtmembrán összetételére és szerkezetére, gátolnak bizonyos transzkripciós elemeket és a fehérje szintézist. A bakteriális sejtmembránon pórusokat képezve növelik annak átjárhatóságát, töltésükből adódóan pedig felboríthatják a membrán nyugalmi potenciálját. A szabadon élő *S. meliloti*-ban az NCR kezelések hatására megfigyelt gén expressziós változások több esetben a gümőből izolált bakteroidokban is tapasztalhatók. Ezek a változások érintik a jelátviteli eseményeket, a membránban zajló folyamatokat, az energia ellátást biztosító rendszert, a transzkripciós és translációs apparátust egyaránt. Az *in vitro* és *in planta* hatások között megfigyelt nagy számú különbség oka pedig, minden bizonnyal magyarázható a különböző NCR koncentrációkkal és/vagy a különböző peptid készletek jelenlétével a növényi sejtekben, és/vagy éppen a különböző környezeti/fiziológiai viszonyokkal.

Az *S. meliloti 1021* transzkriptom analízist és a kísérleti eredményeket összegezve és más baktériumokban különböző antimikrobiális ágensek hatására bekövetkező transzkripcionális változásokkal összevetve elmondhatjuk, hogy az NCR peptidek főbb hatásmechanizmusa a bakteriális membrán fizikai, kémiai és szerkezeti összetételének megváltoztatása, membránpotenciál megzavarása, ugyakkor intracelluláris célpontjai is lehetnek, melyek blokkolják a transzkripciós és translációs folyamatokat, és *in vivo* a baktériumok sejtosztódását a növényi sejtekben. Ezek korrekt bizonyítása azonban további vizsgálatokat igényel a jövőben.

TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK

- **Hilda Tiricz**, Attila Szűcs, Attila Farkas, Bernadett Pap, Rui M. Lima, Gergely Maróti, Éva Kondorosi, Attila Kereszt (2013). Antimicrobial nodule-specific cysteine-rich peptides induce membrane depolarization associated changes in the transcriptome of *Sinorhizobium meliloti*. *Applied and Environmental Microbiology* (2013)
- Matics Heléna, **Tiricz Hilda**, Horváth Nikoletta, Biró Borbála (2013): Érzékeny és toleráns *rhizobiumok* szaporodása növekvő toxikus elem dózisok függvényében. Fiatal kutatók az egészséges étel miszerért. DE tudományos képzési műhelyeinek támogatása TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0024. ISBN 978-963-473-601-1 Debrecen, 141-146 pp. 2013.02.19. Tudományos közlemények
- Zoltán Kevei, Mikhail Balaban., Olivier Da Ines, **Hilda Tiricz**, Alexandra Kroll, Krzysztof Regulski, Peter Mergaert, Eva Kondorosi (2011): Conserved CDC20 Cell Cycle Functions Are Carried out by Two of the Five Isoforms in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS ONE* 6(6) 2011
- Willem Van de Velde, Grigor Zehirov, Agnes Szatmari, Monika Debreczeny, Hironobu Ishihara, Zoltan Kevei, Attila Farkas, Kata Mikulass, Andrea Nagy, **Hilda Tiricz**, Beatrice Satiat-Jeunemaître, Benoit Alunni, Mickael Bourge, Ken-ichi Kucho, Mikiko Abe, Attila Kereszt, Gergely Maroti, Toshiki Uchiumi, Eva Kondorosi, and Peter Mergaert (2010): Plant Peptides Govern Terminal Differentiation of Bacteria in Symbiosis. *Science* 26 Feb 2010; 327: 1122-1126.
- G. Telegdy, **H. Tiricz**, A. Adamik (2005): Involvement of neurotransmitters in urocortin-induced passive avoidance learning in mice. *Brain Research Bulletin* 67 (2005) 242–247
- Biró Borbála, **Tiricz Hilda**, Morvai Balázs (2001): Investigations on the vitality, resistance and diversity of metal-adapted and non-adapted *Rhizobium* strains. *Acta Microbiol. Immunol. Hung.* 48: 167-157.

KONFERENCIA POSTEREK

- **H. Tircz**, A. Szűcs, A. Farkas, P. Mergaert, E. Kondorosi, A. Kereszt (2012): *In vitro* approaches to identify rhizobial pathways targeted by nodule-specific cystein-rich peptides (Poster) 10th European Nitrogen Fixation Conference Munich, German 02.-05.09.2012, PP 10-13
- Emese Petra Balogh, Tímea Mosolygó, **Hilda Tircz**, Adrienn Karai, Fanni Kerekes, D. Virók, Katalin Burián, Éva Kondorosi (2011): Anti-Chlamydial effect of plant peptides (Poster:PPP-1) 16th International Congress of the Hungarian Society for Microbiology, Magyar Mikrobiológiai Társaság nemzetközi kongresszusa
- **H. Tircz**, L. Ördögh, Z. Kevei, K. Mikuláss, P. Mergaert, A. Kereszt, E. Kondorosi (2010): Next Generation Sequencing based transcriptome analysis of *Sinorhizobium meliloti* treated by *Medicago truncatula* nodule specific cystein rich peptides. (Poster) 9th European Nitrogen Fixation Conference September 6-10, 2010, Geneva, Switzerland
- L. Ördögh, **H. Tircz**, Z. Kevei, A. Farkas K. Mikuláss, G. Maróti, P. Mergaert, E. Kondorosi, A. Kereszt (2010): Transcriptome analysis of *Medicago truncatula* symbiotic root nodules and nodule-specific cysteine-rich peptides treated *Sinorhizobium meliloti*. (Poster) 9th European Nitrogen Fixation Conference September 6-10, 2010, Geneva, Switzerland
- Gergely Maróti, Attila Farkas, Dulguun Dorjgotov, Andrea Nagy, Kata Mikulass, **Hilda Tircz**, Zoltan Kevei, Lilla Ördögh, Attila Kereszt, Éva Kondorosi (2010): Nodule specific *Medicago* peptides exhibit strong antibacterial activity (Poster) AMP, Split, 8 - 13 August 2010
- Willem Van de Velde, Grigor Zehirov, Agnes Szatmari, Monika Debreczeny, Hironobu Ishihara, Attila Farkas, Kata Mikulass, Andrea Nagy, **Hilda Tircz**, Beatrice Satiat-

Jeunemaître, Benoit Alunni, Mickael Bourge, Ken-ichi Kucho, Mikiko Abe, Shiro Higashi, Attila Kereszt, Gergely Maroti, Toshiki Uchiumi, Eva Kondorosi, Peter Mergaert (2010): Innate immunity in legume-*rhizobium* symbiosis; antibiotic peptides and terminal differentiation of microsymbiont (Poster) The 19th Annual Meeting of Japanese Society of Plant Microbe Interactions

- Kata Mikuláss, Attila Farkas, **Hilda Tiricz**, Andrea Nagy, Dulguun Dorjgotov, Gergely Maróti, Mónika Debreczeny, Zoltán Kevei, Viktor Szegedi, Attila Kereszt, Willem Van de Velde, Peter Mergaert, Éva Kondorosi (2009): Novel source of antimicrobial peptides from leguminous plants (Poster) 2009 Junius 17-19 Saint-Malo FRANCE, Second International Symposium on Antimicrobial Peptides

Jelölt neve: Tiricz Hilda Anikó

Doktori iskola (Program): SZTE TTIK, Biológia Doktori Iskola

Közlemény címe: Antimicrobial nodule-specific cysteine-rich peptides induce membrane depolarization associated changes in the transcriptome of *Sinorhizobium meliloti*

Szerzők: Tiricz Hilda, Szűcs Attila, Farkas Attila, Papp Bernadett, M. Lima Rui, Maróti Gergely, Kondorosi Éva, Kereszt Attila

Megjelenés helye, ideje: Applied and Environmental Microbiology (AEM) 2013.

Nyilatkozat

Alulírottak kijelentjük, hogy a fenti közleményben megjelent és a jelölt által a Szegedi Tudományegyetemre benyújtott Ph.D. értekezésben felhasznált tudományos eredmények eddig nem szerepeltek más Ph.D. értekezés tudományos eredményei között. Tudomásul vesszük, hogy a fenti tudományos eredmények a jövőben nem szerepelhetnek más Ph.D. értekezés eredményei között.

Tiricz Hilda Anikó (jelölt)
Dr. Kereszt Attila (témavezető, társszerző)
Dr. Kondorosi Éva (társszerző)
Dr. Szűcs Attila (társszerző)
M. Lima Rui (társszerző)
Dr. Maróti Gergely (társszerző)
Papp Bernadett (társszerző)
Farkas Attila (társszerző)

Szeged, 2013,