

PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM

Biológia Doktori Iskola
Genetika Doktori Program

Motívum keresés a humán promóterekben

PhD értekezés tézisei

Nagy Tibor

Témavezető:

Dr. Barta Endre

Tudományos főmunkatárs



PÉCS, 2011

1. Bevezetés

Az eukarióta gének promóter régiói különböző szabályozó elemeket tartalmazhatnak. Ezek az elemek transzkripciós faktorokat köthetnek meg. Egyes transzkripciós faktorok az ortológ fajok között konzerválódhatnak. Többszörös szekvencia illesztés segítségével a konzerválódott motívumok pusztán bioinformatikai módszerekkel megtalálhatók.

Előzőleg csoportunk készített egy DoOP nevű adatbázist, ami a növényi és gerinces promóter szekvenciákat gyűjtötte össze. Az adatbázis több ezer konzervált motívumot tartalmazott, de a kapcsolat a motívumok és a szabályozott gének biológiai szerepe között nem volt ismert.

A konzerváltság mértékét több szinten is meghatározhatjuk. Gerincesek esetében a *Primates* csoport konzervált motívumai nem feltétlenül találhatók meg a *Mammalia* csoportban. Ezért a DoOP különböző konzerváltsági szinteket tartalmaz, melyeket alcsoportoknak nevezünk.

A motívumoknak csak a legritkább esetben van egyértelmű nukleotid sorrendje. Egy pozícióban előforduló nukleotid variációk leírására több módszer is létezik. A DoOP adatbázis konszenzus szekvenciákat használt, amelyekben a variációk IUPAC kódokként jelentek meg. A kis és nagybetűk szintén jelentéssel bírtak. A kis betűk a kevésbé valószínű nukleotidokat jelölték. A legtöbb motívum összehasonlító program mátrixos reprezentációt használ. Ahhoz, hogy konszenzus szekvenciákat hasonlíthassunk össze, új program fejlesztésére volt szükség.

Az expressziós chipok nagy mennyiségű gént tudnak azonosítani, amelyek transzkripciója közös biológiai folyamatokkal indukálódik. A ChIP (kromatin immunprecipitációs chip) kísérletek genomi szinten meghatározzák a fehérjekötő pozíciókat. Jelen munka chip kísérleteken alapul. Expressziós chipet használtunk, hogy egy meghatározott biológiai hatás génjeit felderítsük, míg a hiszton módosítás pozícióit a promóter régióban ChIP-el kerestük meg.

A gén ontológia hidat képez a gének és a funkciók között. Ez egy hierarchikus adatbázis, ahol a szülők általánosabb, és a gyerekek a specifikusabb folyamatokat jelölik. Génlisták esetén, mint amilyenek a chip kísérletek eredményei is, általános módszer a felülreprezentált génfunkciók felderítése gén ontológia segítségével.

2. Célkitűzések

A dolgozat fő célja, hogy megtaláljuk a motívumok nukleotid szekvenciája és a szabályozott gén biológiai szerepe között a kapcsolatot. A cél elérése érdekében új motívum összehasonlító algoritmust kellett tervezni, új funkciókkal bővítve a DoOP adatbázist. Az algoritmust felhasználva hasonló motívumokat kerestünk és gén ontológia segítségével megpróbáltuk felderíteni a motívumokhoz tartozó gének közös biológiai szerepét. A microarray kísérletekből nyert koexpresszált gének promóter szakaszain közös motívumokat kerestünk. Végezetül a hiszton módosítási szakaszok vizsgálatával biológiai folyamatokra specifikus motívumokat akarunk találni.

3. Anyagok és módszerek

3.1. Bioinformatikai adatbázisok

A DNS szekvenciák elsődleges forrása az EnsEMBL genom adatbázis volt. A szekvenciákat az EnsEMBL Perl programozói könyvtárat használó szkriptekkel kaptuk meg. Homológ promóter vizsgálatokhoz az EnsEMBL Compara vagy a UCSC adatbázis volt a forrás. Génfunkciók megállapításához a 2007-es Gene Ontology adatbázist használtuk.

3.2. Szekvencia feldolgozó programok

Az egyszerű konszenzus szekvenciák keresése az Emboss 3.1 programcsomag részét képező *fuzznuc* programmal történt. A keresések során két báziscserét engedélyeztünk. Kontroll adatok előállításához az eredeti szekvenciákat *shuffleseq* programmal összekevertük, így az eredeti és a kontroll adatok nukleotid aránya megegyezett.

A repetitív szekvenciákat *cursor* 4.1-el távolítottuk el. Humán adatok esetén a *-hum* parancssori paramétert használtuk. Ez a beállítás nem csak a humán specifikus ismétlődéseket, hanem az ALU szekvenciákat is eltávolította.

3.3. De novo motívum keresés

Az új motívumokat a *NestedMica* 0.7.3-al kerestük. A program nagyon érzékeny az *-ensembleSize* paraméterre, amelynek értékét tesztfuttatások alapján 400-ra állítottuk be. A megtalálendő szekvencia méretét 13 bázispár hosszúnak adtuk meg. A program megadott számú motívumot talált meg, amit a *-numMotif* segítségével állíthattunk be. Ebben a kísérletben értéke 4 volt.

A *NestedMica* képes konzervált motívumok felderítésére ortológ szekvenciákban. Ilyen típusú vizsgálatokhoz *Canis familiaris*, *Bos taurus*, *Mus musculus* és *Rattus norvegicus* fajok szekvenciáit használtuk.

3.4. Chip és ChIP eredmények feldolgozása

Az expressziós chip kísérleteket Szatmári István végezte, Affymetrix HG-U133A platformon. Kiértékelésükhöz GeneSpring 7.3.1 és Bioconductor 2.0 programokat használtunk. A nyers adatokat GC-RMA algoritmus-sal előkészítettük, majd az eredményeket chipenként normalizáltuk. Az alacsony expressziós szintű próbákat, amelyek a kísérletek 90%-ban 20-nál alacsonyabbak voltak, kiszűrtük. Azokat a géneket választottuk ki, melyek kétszeres expressziós szint változást mutattak ($p < 0,01$).

A kromatin immunprecipitációs vizsgálatokat Bálint B. László végezte. A HL60 sejtvonalat retinsavval kezelte, hogy megindítsa a differenciációt. A kezelés nélküli kontroll sejtek a naív jelölést kapták. Az immunprecipitációs lépésnél kétféle antitestet használt. Az első a hiszton H3K4 oldalláncára volt specifikus, míg a második a hiszton H4R3 oldallánca.

A nyers adatokat Affymetrix Tiling Analysis SDK 2 programmal dolgoztuk fel, a következő beállítások mellett: *type*: 0, *band*: 25, *pval_scale* 0, *sig_scale* 2. A pozíciókhoz tartozó szekvenciákat a 35-ös verziószámú NCBI genom adatbázisból nyertük ki.

3.5. Statisztikai analízis

A hipotéziseket az R csomag (verziószám: 2.4) segítségével teszteltük. A tesztek konfidencia intervalluma 0,05 volt. Az átlagokat *t.test* programmal hasonlítottuk össze, míg a korrelációkat *cor* programmal állapítottuk meg.

A túlreprezentált gén ontológiai jellemzők megállapítására a GeneMerge programot használtuk. Ez az alkalmazás hipergeometrikus eloszláson alapuló modellt alkalmaz, hogy szignifikáns GO jellemzőket találjon. A programot módosítottuk, mert annak eredeti verziója az átmeneti állományait fájlokban tárolta a memória helyett.

4. Eredmények és megvitatásuk

4.1. Új DoOP jellemzők

A DoOP adatbázis legfőbb újítása a programozói felület (API). Az új API segítségével könnyebben adhatunk új funkciókat a weboldalhoz. Másik előnye, hogy parancssoros programokból is elérhetjük az adatokat. A legtöbb bioinformatikus Perl nyelvet használ a mindennapi programozáshoz, ezért a DoOP API-t is ezen a nyelven fejlesztettük.

A programozói felület a CPAN-on is elérhető, ami a legáltalánosabb Perl gyűjtemény. Teljesen objektum-orientált. A modul név ütközést úgy kerültük el, hogy egy új névteret kapott Bio::DOOP::DOOP néven. A programozói felület egyetlen modulja sem tartalmaz Bioperl függőségeket.

Az API segédosztályokat tartalmaz, melyek segítségével motívum összehasonlításokat lehet futtatni és PNG formátumban kaphatjuk meg a motívumok pozícióit.

4.2. Motívum összehasonlító algoritmus

A motívumok hasonlóságának megállapítására fejlesztettük ki a *mofext*-et. A program a kereső és keresendő szekvenciákat kisebb, átfedő szavakra bontotta. A szavakat egy hasonlósági mátrix segítségével hasonlította össze. Ez a mátrix a bázisok hasonlósági pontszámait tartalmazta. Ha a szavak hasonlósága nagyobb volt, mint a megadott küszöb érték, a program megpróbálta kiterjeszteni a szavakat. Eredményül a kiterjesztett részszekvenciákat és a hasonlósági pontszámot adta. A *mofext* csak hézagmentes motívumokkal tud dolgozni.

Van egy DoOP modul, ami ezt a programot meg tudja hívni. Ez segít a felhasználónak, hogy motívumot nyerjen ki az adatbázisból és hasonlósági keresést futtasson saját programokból.

A program képességeinek tesztelésére négyféle kereső motívumot választottunk ki a Transfac adatbázisból. A kereső motívumok a sejt ciklus szabályozásban, homeosztázis fenntartásban, valamint a neuron és izom fejlődés résztvevő géneket szabályoztak. A keresendő motívumok a DoOP gerinces motívumai voltak.

A megtalált motívumok gén ontológiáját egy szöveg alapú eljárással vizsgáltuk. A gén ontológiát úgy rendeltük a motívumhoz, hogy a motívum a tőle 3' irányban található gén ontológiáját kapta. A gén ontológiai kifejezéseket kulcsszó alapján kerestük, mert a dolgozat idején a Transfac adatbázis nem tartalmazott gén ontológiai azonosítókat.

Az eredmények azt mutatják, hogy szóméretet növelve a *mofext* specifikusabb motívumokat talál. Ugyanakkor a gén ontológiának van néhány hiányossága. Például nem mindegyik vizsgált motívumhoz tudunk ontológiát rendelni, mert nem mindegyik génnek volt ilyen annotációja. A másik probléma, hogy a gén ontológia, felépítése alapján egy irányított aciklikus gráf. Azért, hogy megtaláljunk minden GO kategóriát, ami egy génhez rendelhető, be kell járnunk a csomópontokat, ami számításigényes feladat. Vizsgálatunkban csak az utolsó GO csomóponton végeztünk keresést.

4.3. Motívum klaszterezés

A *mofext* motívumokat tud összehasonlítani, ezért használható klaszterezésre. A motívum csoportok összehasonlítására új programot terveztünk, amelyet *klaszterezo.pl*-nek neveztünk. A program tud párhuzamos módban futni.

A vizsgált motívumok egy része kromatin immunprecipitációs vizsgálatokból származott. Az ENCODE régióba eső hiszton acetilációs és metilációs pontokhoz kapcsolt pozíciókat az UCSC Genome Browser-ből nyertük ki.

A homológ szekvenciákat Dialign2 programmal illesztettük. A konzerválódott szakaszokat a többszörös illesztésekből kinyerve 4708 motívumot kaptunk.

Ezekből a motívumokból klaszterezéssel 21 csoportot képeztünk. Egy-egy csoport közös biológiai szerepének meghatározására GO-t használtunk. A feldúsuló kifejezéseket GeneMerge-gel kerestük. Nem találtunk egyetlen GO kategóriát sem, ami csak egy osztályra lett volna jellemző. Valószínűleg túl sok fals pozitív motívumot tartalmaztak a csoportok.

Ezután megpróbáltuk a DoOP adatbázis összes motívumát klaszterezni, amely előzetes számítások szerint 113 évig tartott volna. A futásidő csökkentése érdekében indexelést használtunk. Négy millió motívum esetén azonban az index túl sok helyet foglalt volna el, ezért csak a gerinces alcsoportokat indexeltük és klasztereztük. Az eredmények azt mutatják, hogy az átlagos motívum szám és a motívumok hosszúsága növekszik, ahogy közeledünk a *Primates* alcsoport felé.

A *mofext* a motívumokat kisebb részekre bontja, ezért sérülhet a háromszög egyenlőtlenség. Ebben az esetben a klaszterezés nem diszkrét csoportokat, hanem motívum grádiens eredményez. Ez a jelenség nagyban függ a szóméret paramétertől.

Az eredmények azt sugallják, hogy a *mofext* jól teljesít hasonló motívumok megtalálása esetén, de hibázik klaszterezésnél. További fejlesztések szükségesek, hogy kijavítsuk a programnak ezt a gyengeségét.

A motívum klaszterezés még nem megoldott. Nehézségeket okoz a különböző hosszúságú motívumok összehasonlítása. A cisRed adatbázis készítői szintén megpróbáltak motívumokat klaszterezni. Nagy számítási kapacitással rendelkeztek, de a különböző hosszúságú motívumok összehasonlításánál ők is kudarcot vallottak.

4.4. De novo motívum felderítés

Azért, hogy új motívumot találjunk, kiválasztottunk egy speciális biológiai folyamatot. Ez a folyamat a monocita-dendritikus sejt átalakulás volt. Az átalakulás roziglitazon hatására indult el. Mintákat vettünk 6

órával, 24 órával és 5 nappal a differenciálódás kezdete után. Mindegyik mintában elkülönítettük a fokozott és csökkent aktivitást mutató géneket.

A gének szabályozó régióit az EnsEMBL adatbázisból nyertük ki. Korábbi publikációk arról számoltak be, hogy a lipid-függő sejtmagi receptor peroxiszóma proliferátor aktivált receptor gamma (PPAR γ) szerepet játszik a dendritikus sejt fejlődésben.

A PPAR γ kötőhely konszenzus szekvenciáját (AGSTCMN(1,7)AGSTCM) kerestünk a vizsgált és a kontroll génlisták szabályozó régióiban. Kétféle kontroll listát használtunk. Az első véletlenszerűen kiválasztott géneket tartalmazott, amelyek száma megegyezett az eredeti listában található gének számával. A második az eredeti szekvenciák kevert változatát tartalmazta.

A különböző listák összehasonlítása azt mutatta, hogy a kevert készlet minden esetben különbözött a másik két adattól, de az eredeti és a véletlenszerűen kiválasztott minták között nem volt különbség. Ezek az eredmények azt sugallják, hogy a PPAR γ sokkal általánosabb transzkripció szabályozó elem, mint régebben feltételezték.

Az adatszetre jellemző transzkripció faktor kötőhelyeket a NestedMica segítségével kerestük meg. Az első futtatások nem szolgáltak értékelhető eredménnyel. A NestedMica képes ortológ szekvenciákat használni, hogy specifikusabb motívumokat találjon. Az ortológ szekvenciákat az EnsEMBL adatbázisból nyertük ki. Ezen a készleten futtatva, a NestedMica a 6 órás minta fokozott aktivitást mutató génjeinek promóterében motívumot talált. A leghatározottabb motívum konszenzus szekvenciája RCCTCNRCTC volt. Heterodimer formája van, csak úgy, mint a PPAR γ -nak, ezért a vizsgálatoknak ebben a fázisában a DRA nevet kapta.

A DRA előfordulását összeszámoltuk az eredeti, a véletlenszerűen kiválasztott, és az összekevert adaton. Az egyes adatszettek összehasonlítása ugyanazt az eredményt adta, mint PPAR γ esetében. A DRA előfordulási maximuma a TSS közelében volt. Sajnálatos módon, ha az ismétlődő szakaszokat RepeatMaskerel távolítottuk el Censor program helyett, a DRA csúcs eltűnt. További vizsgálatok szükségesek, hogy eldönthessük a DRA eredetének kérdését.

4.5. Kromatin immunprecipitáció

A HL60 mieloid sejtvonal differenciálódását DMSO-val indítottuk el, de az indukcióhoz 9-cisz retinsavra volt szükséges. A differenciálódás során a hiszton modifikációs faktorok kromatin immunprecipitációjával azonosítottuk az acetilációs és metilációs pontokat.

Az acetilációs, illetve metilációs pontok és a legközelebbi TSS távolságát megmértük és összeszámoltuk az előfordulásukat minden 200 bázispáros szegmensben. A szegmensek 50 bázispár hosszúságban átfedtek. A hiszton módosítási pontok előfordulásának számát grafikusán ábrázolva azt vettük észre, hogy a TSS-től való távolság szisztematikus.

Ekkor egy újszerű módszert alkalmazva a CHIP eredményeket expressziós chip-el szűrtük. Voltak chip eredményeink HL60 sejtek 9-cisz-retinsav kezeléséből. Mindkét kísérletből génlistákat készítettünk. A legközelebbi, megfelelő orientációban álló gént hozzárendeltük a CHIP eredményből kapott kromoszóma pozíciókhoz, ezáltal az eredményeket szűrhetjük fokozott vagy csökkent aktivitást mutató, illetve nem változó génekkel. A TSS függő hatás mindhárom esetben megjelent.

Néhány publikáció szerint az exon-intron határoknak különleges szerepe van a gén regulációban, ezért az acetilációs és metilációs helyek és az exon-intron határok távolságát is megmértük.

Az eredmények azt mutatták, hogy a hiszton módosítási pozíciók a legnagyobb számban a határokon fordultak elő, és átlagos előfordulásuk az intronban nagyobb, mint az exonban. Ezen a korábban bemutatott szűrés sem hozott változást. Eredményeink alapján kijelenthetjük, hogy az exon-intron határok fontosak a génszabályozásban, de nem mutatnak reakció-specifikus különbségeket.

5. Összefoglalás

A gének funkciója és promóter régiójukban található transzkripciók kötőhelyek konszenzus szekvenciája között kapcsolatot találni nem könnyű feladat. Első lépésként a bioinformatikai háttérrel kell felépíteni, amit csoportunk a DoOP adatbázissal, *mofext* programmal és a kettő ötvözetének tekinthető DoOPSearch weboldallal valósított meg. Ezek az eszközök nem kutatás specifikusak. Bármilyen más promóter és konzerválódott motívum vizsgálat eszköztárába felvehetőek.

Második lépésként hasonló motívumokat gyűjtöttünk össze, majd közös funkciókat kerestünk a hozzájuk tartozó gének között. A közös biológiai szerepet a gén ontológiai adatbázis segítségével állapítottuk meg, és hipergeometrikus eloszláson alapuló módszerrel határoztuk meg annak mértékét. Az így keletkezett csoportok klaszterezése meghaladta a rendelkezésünkre álló erőforrásokat, ezért kisebb evolúciós csoportokon alkalmaztuk csak.

A cél érdekében megfordítottuk a módszereket. Nem a motívumok felől jutottunk el a gének felé, hanem a hasonló biológiai funkcióval rendelkező gének szabályozó régiójában kerestünk közös elemeket. A géneket chip kísérletekből kaptuk meg. Közös tulajdonságuk, hogy PPAR γ -t tartalmaznak, ami bizonyítottan a lipid metabolizmusban szerepet játszó transzkripciók kötőhely. Kidolgoztunk egy módszert, amivel a chip kísérletekben pozitív géneket lehet vizsgálni. Bizonyítottuk, hogy a fokozott intenzitást mutató gének szabályozó régióiban nem fordul elő statisztikailag feldúsulva a DR1 a véletlenszerűen kiválasztott génekhez képest. A génlistán végrehajtott *de novo* motívum keresések segítségével sikerült azonosítani új elemeket, de biológiai szerepük nem tisztázott.

Sokkal jobb eredményt ad a motívumok és a transzkripciók kezdőpont távolságának elemzése. Itt arra az eredményre jutottunk, hogy a TSS közelében nagyobb a motívumok előfordulásának valószínűsége. Ezek alapján a szabályozást nemcsak a motívum jelenléte vagy hiánya szabja meg, hanem a szabályozó régióban betöltött pozíciója is. Ezt más publikációk is alátámasztják.

Ugyancsak a pozíció specifikus jelenlét egyik közvetett bizonyítékként tekinthetünk az exon-intron határok és az acetilációs illetve metilációs pontok távolságának összefüggésére is. A határpontok maximuma ugyanis az exon-intron határtól 154 bázispár távolságra található. Tehát bármilyen kapcsolat is legyen az intronok kezdőpontja és az acetilációs, illetve metilációs pontok között, az nem független kettejük távolságától.

A transzkripciók szabályozásról kialakult kép még közel sem teljes. Nem tudjuk meddig terjednek a szabályozó régiók határai, esetleg nincs-e olyan genomi struktúra, ami szintén befolyásolhatja a génregulációt.

Bizonyított, hogy a térszerkezet is konzerválódhat. Különböző, egymáshoz nem hasonló szekvenciák képesek felépíteni hasonló térbeli szerkezetet, amit a szabályozó elemek hasonlóként ismernek fel. A bioin-

formatikai vizsgálatokhoz ezen ismereteket is fel kell használni, hogy az eredmények egyértelműbbek legyenek.

6. Publikációk

6.1. A disszertáció alapjául szolgáló tudományos közlemények

István Szatmari, Dániel Torocsik, Maura Agostini, *Tibor Nagy*, Mark Gurnell, Endre Barta, Krishna Chatterjee, László Nagy. PPARgamma regulates the function of human dendritic cells primarily by altering lipid metabolism. *Blood*, 110(9):3271-80, 2007. jul. (IF:10.55)

Endre Sebestyén, *Tibor Nagy*¹, Sándor Suhai, Endre Barta DoOPSearch: a web-based tool for finding and analysing common conserved motifs in the promoter regions of different chordate and plant genes. *BMC Bioinformatics*, 10(6):S6, 2009. (IF:3.43)

6.2. A disszertáció témakörében készült konferencia előadások és poszterek

Endre Sebestyén, *Tibor Nagy*, Tamás Pálffy, Gábor Tóth, Endre Barta: Identifying common conserved promoter motifs between genes, using the taxonomic group-based motif collections of the DoOP database. 15th Annual International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology and 6th European Conference on Computational Biology. Bécs, 2007 július 21-25. Poszter

Sebestyén Endre, *Nagy Tibor*, Pálffy Tamás, Szenes Áron, Molnár János, Tóth Gábor és Barta Endre: A transzkripció szabályozásának vizsgálata bioinformatikai módszerekkel: A DoOP adatbázis és a DoOPSearch keresőoldal. 2006. Magyar Biokémiai Egyesület 2006. évi vándorgyűlése. Poszter

Pálffy Tamás, Sebestyén Endre, *Nagy Tibor*, Tóth Gábor és Barta Endre: A transzkripció kezdőpont körüli szekvenciák nukleotid eloszlás és motívum mintázat vizsgálat különböző emlős és rizs promóterekben. Magyar Biokémiai Egyesület 2006. évi vándorgyűlése.

Pálffy Tamás, Sebestyén Endre, *Nagy Tibor*, Tóth Gábor és Barta Endre: A transzkripció kezdőpont körüli szekvenciák nukleotid eloszlás és motívum mintázat vizsgálat különböző emlős és rizs promóterekben. 2006. évi Magyar Bioinformatikai Társaság alakuló ülése. 2006 június 12-13. Előadás

Sebestyén Endre, *Nagy Tibor*, Pálffy Tamás, Szenes Aron, Molnár János, Tóth Gábor és Barta Endre: A transzkripció szabályozásának vizsgálata bioinformatikai módszerekkel - DoOP adatbázis és a DoOPSearch keresőoldal. 2006. évi Magyar Bioinformatikai Társaság alakuló ülése. 2006 június 12-13. Előadás

6.3. Egyéb tudományos közlemények

Adrien Pálvölgyi, Veronika Deák, Véréna Poinot, *Tibor Nagy*, Enikő Nagy, Ildikó Kerepesi, Péter Putnoky (2009) Genetic analysis of the rkp-3 gene region in *Sinorhizobium meliloti* 41: rkpY directs capsular polysaccharide synthesis to KR5 antigen production. *Mol. Plant Microbe Interact*, 22, 1422-1430. (IF: 4,275)

¹Megosztott első szerzők

6.4. Egyéb konferencia előadások és poszterek

Horváth Győző, Molnár Dániel, *Nagy Tibor*, Csete Sándor: A gyöngybagoly, *Tyto alba* (Scop., 1769) táplálékából kimutatható kisméretű közösségek összehasonlító vizsgálata a vadászterületek foltelemzése alapján. 2000. *Acta Biol. Debr. Hung.* p 234. Poszter

Putnoky Péter, Kerepesi Ildikó, Nagy Enikő, *Nagy Tibor*, Bradley L. Reuhs: Mi a szerepe az rkpY génnek? 2003. V. Magyar Genetikai Kongresszus. Poszter

Nagy Tibor, Deák Veronika, Pálvölgyi Adrienn, Kerepesi Ildikó, Putnoky Péter: Az rkpRST gének és a kapszuláris poliszacharid bioszintézis *Sinorhizobium meliloti* baktériumban, VI. Magyar Genetikai Kongresszus Eger, 2005. Poszter.

Pálvölgyi Adrienn, Deák Veronika, *Nagy Tibor*, Nagy Enikő, Kerepesi Ildikó, Putnoky Péter: Az RkpY a Kdo homopolimer bioszintézis szupresszora *Sinorhizobium meliloti*-ban, Genetikai Műhelyek Magyarországon, 7. Minikonferencia, Szeged, 2008. Előadás.