



<http://diszhaldiszkont.shp.hu>

# Egy márna (*Barbus barbus*) circovírus kimutatása és genetikai jellemzése

Lőrincz Márta, Cságola Attila, Farkas L. Szilvia, Székely Csaba,  
Tuboly Tamás

# Bevezetés

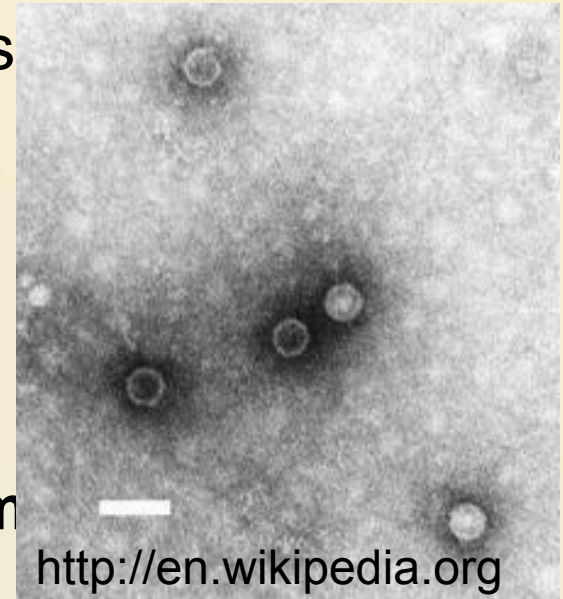
- ***Circoviridae*** család, valamennyi tagja erősen **immunszuppresszív**
- Kisméretű, burok nélküli, ss DNS vírus
- Előfordulás:
  - **Madarak**
  - **Sertés**

**Újabban más circuláris vírusgenom**

- Csimpánz, ember, denevér
- Környezeti (víz) minták és tengeri teknős



<http://diszhaldiszkont.shp.hu>



<http://en.wikipedia.org>

# Bevezetés

## S

- Madarakban:
  - Fejlődési zavar
  - Lymphoid depleció
  - Immunszuppresszió
- Sertések circovírussal kapcsolatos megbetegedései:
  - PDNS (sertések dermatitisz-nefropátiája)
  - PMWS (választott malacok circovírus okozta sorvadása)
  - PRDC (sertések légzőszervi-komplexe)
  - Reproductív rendellenességek
  - Egyéb kórképekben feltételezett szerep
- **Valamennyi fajban a fiatal egyedekben**
- **Számos, az immunszuppresszióból adódó**



<http://diszhaldiszkont.shp.hu>

# Márna (*Barbus barbuis*)

- Pontyfélék (*Cyprinidae*) családjához tartozó faj
- Testhossza 40-50 cm, súlya 4-5 kg
- Mindenevő
- 3-5 éves korában válik ivaréretté
- Nemes halként tartják számon
- Kitűnő sporthal



<http://diszhaldiszkont.shp.hu>



# Célkitűzés



<http://diszhaldiszkont.shp.hu>

Körkörös egyszálú DNS genomokat találtak természetes vizekben és teknősben



Lehetőség arra, hogy a halak, kétéltűek és hüllők is hordozhatják

Esetleg saját vírusuk is van

# Minták



<http://diszhaldiszkont.shp.hu>

- 138 (+18) db minta, ebből
    - Hüllő
    - Kétéltű
    - Hal:
- 74 db
- 63db (+1 halliszt)

Továbbiakban márna: 18 db és elpusztult ivadékok

DNS kivonás

Általános  
circovírus  
kimutató PCR

Pozitív  
minták: PCV  
PCR

# Márnaivadék



<http://diszhaldiszkont.shp.h>

Általános circovírus: pozitív, de PCV: negatív<sup>u</sup>



Szekvencia analízis: circovírus genusba tartozik



Újabb márnák gyűjtése



**PCR**



**Teljes  
genom**

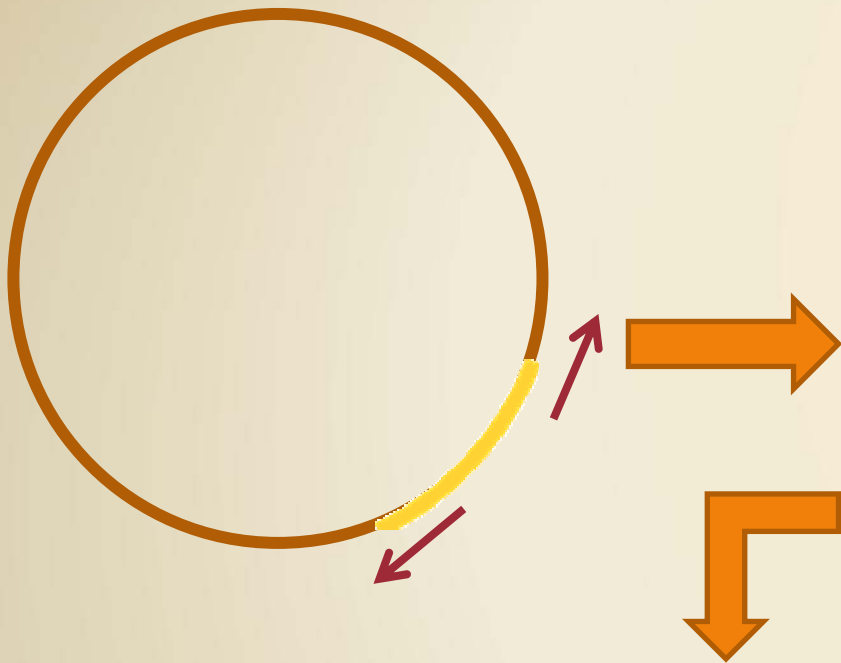
# Márna



<http://diszhaldiszkont.shp.hu>

- Összesen 20 db márna (különböző szervek)
- PCR
- Szekvencia analízis
- RCA (gördülő-körös amplifikáció: körkörös DNS szekvencia-független izotermikus sokszorosítása)
- Primertervezés (kihasználva a körkörös genomot)





lacZα ATG

M13 Reverse Primer  
 CAG GAA ACA GCT ATG ACC ATG ATT ACG CCA AGC TTG GTA CCG AGC TCG GAT CCA CTA  
 GTC CTT TGT CGA TAC TGG TAC TAA TGC GGT TCG AAC CAT GGC TCG AGC CTA GGT GAT

Hind III Kpn I Sac I BamHI Spe I

BeKI EcoR I PCR Product EcoR I  
 GTA ACG GCC GCC AGT GTC CTG GAA TTC GCC CTG GAT GGC GAA TTC TGC  
 CAT TGC CGG CGG TCA CAC GAC CTT AAG CCG GAT TTC CCG CTT AAG ACG

EcoR V BeKI NotI Xho I Nsi I Xba I Apa I  
 AGA TAT CCA TCA CAC TGG CGG CCG CTC GAG CAT GCA TCT AGA GGG CCC AAT TCG CCC TAT  
 TCT ATA GGT AGT GTG ACC GCC GGC GAG CTC GTA CGT AGA TCT CCC GGG TTA AGC GGG ATA

T7 Promoter M13 Forward (-20) Primer  
 AGT GAG TCG TAT TAC AAT TCA CTG GCC GTC GTT TTA CAA CGT CGT GAC TGG GAA AAC  
 TCA CTC AGC ATA ATG TTA AGT GAC CCG CAG CAA AAT GTT GCA GCA CTG ACC CTT TTG

+1 P lac lacZα ori  
 pUC ori pCR®2.1-TOPO® 3.9 kb  
 Ampicillin Kanamycin

Klónoz

<http://genome.med.yale.edu>

lacZα ATG

M13 Reverse Primer Sp6 Promoter  
 CAG GAA ACA GCT ATG ACC ATG ATT ACG CCA AGC TTT TTA GGT GAC ACT ATA GAA  
 GTC CTT TGT CGA TAC TGG TAC TAA TGC GGT TCG TTA AAT CCA CTG TGA TAT CTT

Nsi I Hind III Kpn I Sac I BamHI Spe I

BeKI EcoR I PCR Product EcoR I EcoR V  
 GGC AGT GTG CTG GAA TTC GCC CTT AAG CCG GAT TTC CCG CTT AAG ACG TCT ATA

BeKI NotI Xho I Nsi I Xba I Apa I  
 CCA TCA CAC TGG CGG CCG CTC GAG CAT GCA TCT AGA GGG CCC AAT TCG CCC TAT  
 GGT AGT GTG ACC GCC GGC GAG CTC GTA CGT AGA TCT CCC GGG TTA AGC GGG ATA

T7 Promoter M13 (-20) Forward Primer  
 AGT GAG TCG TAT TAC AAT TCA CTG GCC GTC GTT TTA CAA CGT CGT GAC TGG GAA AAC  
 TCA CTC AGC ATA ATG TTA AGT GAC CCG CAG CAA AAT GTT GCA GCA CTG ACC CTT TTG

+1 P lac lacZ



**TELJES  
GENOM  
SZEKVENCIA**

Restriktációs endonukleázokkal hasítás

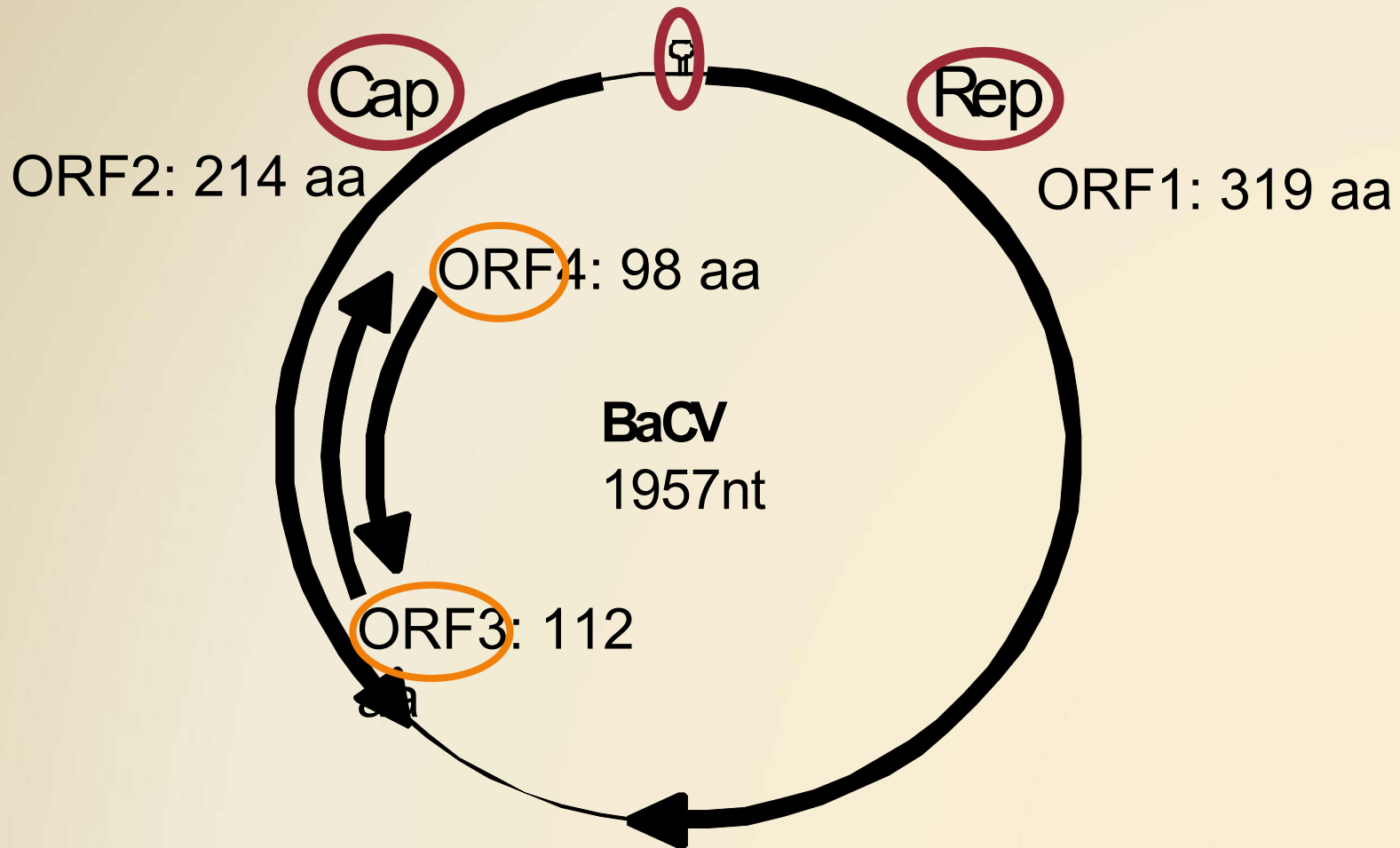
# Eredmények

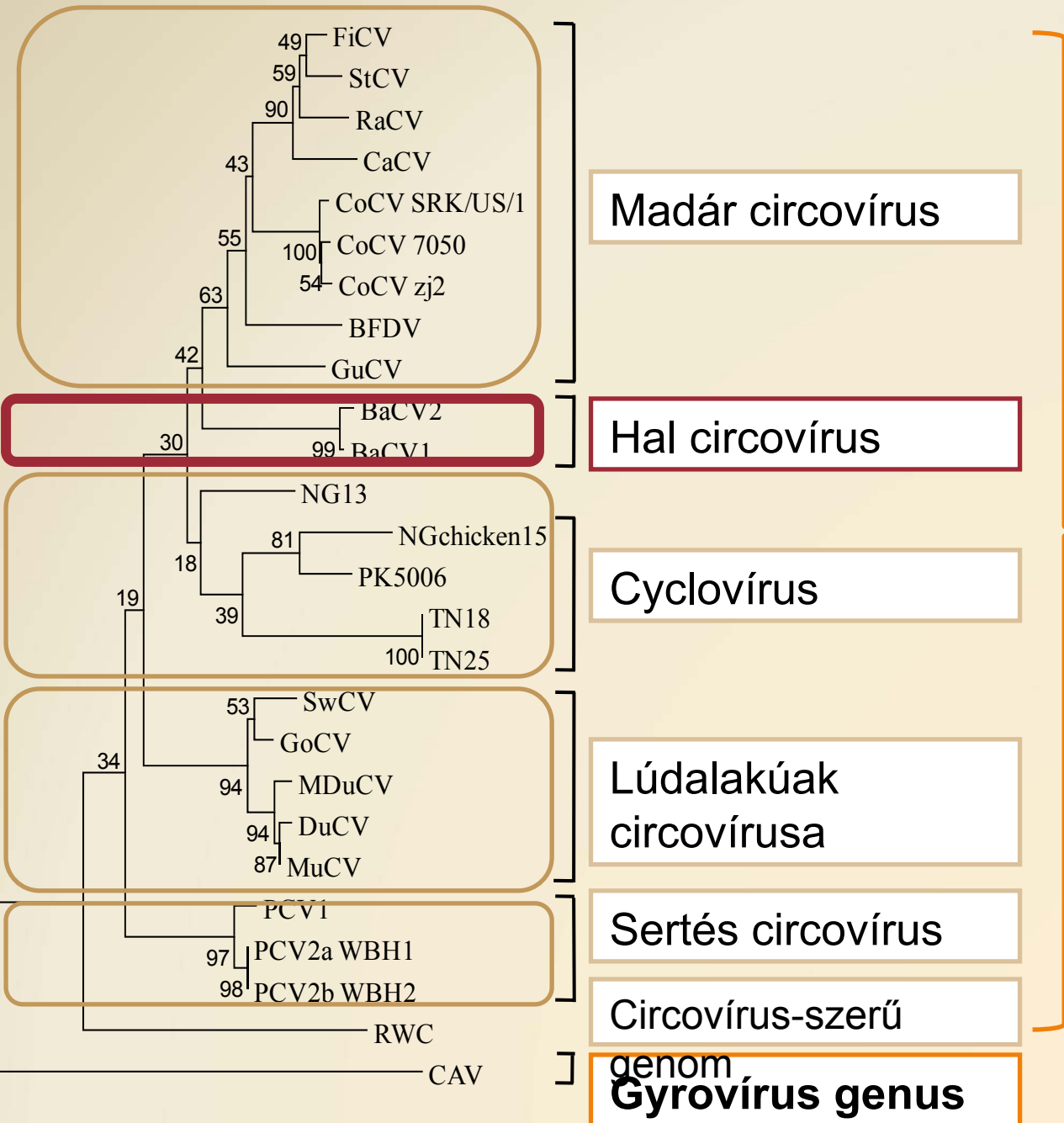


<http://diszhaldiszkont.shp.h>

- Hüllőkben, kétéltűekben nem találtunk vírust
- Márnákban 7 pozitív állat (vizsgált márnák 35%)
- Leggyakrabban lép, máj, ikra
- 2 teljes vírusgenom
- *Circovirus* genus tagja, de nem egyezik meg eddig ismert circovírusokkal
- 1957 bp, egymással 94,7% hasonlóság

# Genetikai jellemzésük





C  
i  
r  
c  
o  
v  
í  
r  
u  
s  
  
g  
e  
n  
u  
s

0.2

# Jövő



<http://diszhaldiszkont.shp.hu>

- Vírust izolálni
- Megbetegítő-képességét vizsgálni a vírusnak
- Más halvírusok kutatása, genetikai jellemzése, vizsgálata
- Más halakban circovírus keresés

# Köszönetnyilvánítás



<http://diszhaldiszkont.shp.hu>

- Dr. Molnár Kálmán
- Dr. Láng Mária
- Stanczel Attila
- Józsi bácsi
- Patakiné Ostoros Györgyi
  
- OTKA K 71837

# Köszönöm a figyelmet!



© Ákos Harka

[http://www.carpathianbasinspecies.e](http://www.carpathianbasinspecies.eu)

u

2011. május 26.