

# BIOKÉMIA

A Magyar Biokémiai Egyesület tájékoztatója  
Quarterly Bulletin of the Hungarian Biochemical Society

Szerkesztőbizottság:  
GERGELY PÁL, HUDECZ FERENC, NYESTE LÁSZLÓ, SARKADI BALÁZS

Felelős szerkesztő:  
SZÉKÁCS ANDRÁS

XXX. ÉVF. 4. SZÁM

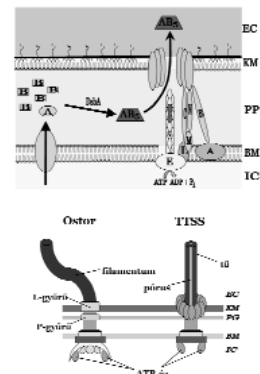
2006. DECEMBER

A tartalomról:

- ◊ Nehézfémkötő, flagellinalapú receptorok – *Sebestyén Anett, Végh Barbara, Szekrényes Ákos, Kurunczi Sándor és Vondervoiszt Ferenc*
- ◊ Mikroorganizmusok fagocitaellenes védekezésének molekuláris mechanizmusai – *Rada Balázs*
- ◊ A Magyar Biokémia Egyesület 2006. évi vándorgyűlése – Késői előadás- és poszter-összefoglalók
- ◊ Egyesületi nagyrendezvény – 9 év után újra – *Berente Zoltán*
- ◊ Nemzetközi szimpózium a növények veleszületett és szerzett betegség-ellenállóságáról – *Barna Balázs*
- ◊ Klement Zoltán (1926 – 2005) – *Király Zoltán és Kőmíves Tamás*
- ◊ A csupasz majom Janus-arcú teremtményei – *Zöldi Viktor*
- ◊ Sigma-díj fiatal kutatóknak – *Matus Ilona*

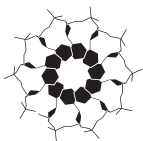
Címlapkép:

A patogén bakteriális szekréciós rendszerek egyes típusai. Balra fent: A kolera-toxin összeépülése és szekréciója az Eps 2-es típusú szekréciós rendszeren keresztül *Vibrio cholerae* baktériumban. A toxin A- és B-alegységei az általános szekréciós útvonalon (Sec-út) jutnak át a belső membránra (BM) a periplazmatikus térbe (PP). Itt szerelődnek össze a végleges, többalegységes toxinná (AB<sub>5</sub>). A számos fehérjéből felépülő, 2-es típusú szekréciós rendszer (Eps) segítségével jutnak át a külső membránra (KM) az extracelluláris térbe (EC). Az A-, B-, N-fehérjék itt részt vesznek ugyan a komplex felépítésében, de nem minden baktériumban szükségesek a sikeres szekrécióhoz. Jobbra lent: A 3-as típusú szekréciós rendszer (TTSS) felépítése. A csak a Gram-negatív baktériumokban előforduló TTSS rendszer szerkezeti és funkcionális hasonlóságot mutat a bakteriális flagellummal. EC: extracelluláris tér; KM: külső membrán; PG: peptidoglikán (sejtfal); BM: belső membrán (ld. a vonatkozó közleményt a 91–98. oldalakon).



Contents:

- ◊ Flagellin-based receptors for heavy metal binding – *Anett Sebestyén, Barbara Végh, Ákos Szekrényes, Sándor Kurunczi and Ferenc Vondervoiszt*
- ◊ Molecular mechanisms underlying the antiphagocytic defence of microorganisms – *Balázs Rada*
- ◊ The 2006 meeting of the Hungarian Biochemical Society – Late lecture and poster abstracts
- ◊ Biochemical Society Assembly Meeting and Conference – again after 9 years – *Zoltán Berente*
- ◊ International symposium on innate and acquired disease-resistance of plants – *Balázs Barna*
- ◊ Zoltán Klement (1926–2005) – *Zoltán Király and Tamás Kőmíves*
- ◊ Janus-faced artifacts of the naked ape – *Viktor Zöldi*
- ◊ Sigma Award for young researchers – *Ilona Matus*



MAGYAR  
BIOKÉMIAI  
EGYESÜLET

Kiadja a Magyar Biokémiai Egyesület, 4012 Debrecen, Pf. 6  
e-mail: [biokemia@nki.hu](mailto:biokemia@nki.hu) <http://www.webio.hu/biokemia>  
Felelős kiadó: Dr. Fésüs László

Az engedély száma: III/SZI/397/1977 HU ISSN 0133-8455  
Készíti és terjeszti a **dART studio** (1137 Budapest, Újpesti rakpart 6. Tel.: 349-3426)  
Ára • a Magyar Biokémiai Egyesület tagjai részére: tagdíj ellenében,  
• nem egyesületi tagoknak: 680 Ft + postaköltség

**WEB10**  
BioScience Portal



# KÖRNYEZETVÉDELEM - VÍZANALITIKA

## GYORSTESZTEK

**QUANTOFLEX**  
UNIFERÁLIS SZÍNTÉNYŐZŐ  
INDUKTOR ÉS TESZTSTRÉP  
T = 1000 mg/l

**VISOCOLOR**  
VIZUÁLIS TITRÁCIÓS  
SZÍNTÉNYŐZŐ  
0,01 - 100 mg/l

**POTOMETRIÁS TESZTKESZLET**  
0,001 - 1000 mg/l

## SZŰRŐPAPIROK MEMBRÁNSZŰRŐK SZŰRŐKARTONOK

A maximális minőség  
munkafeltételek számára!

**WAGNER**

**KVALITATIV TESZTPAPIROK**  
**pH - PAPIROK**  
**KVALITATIV TESZTPAPIROK**

**MACHEREY-NAGEL** MN

**NAGYOBB TELJESÍTMÉNY  
KISEBB MÉRÉTBEN**

**liquiTOC IKA**

Magas hőmérsékletű TOC és TN

1. KÉSZLETTEL  
2. KÖZHASZNÁSI FELMÉRÉS  
3. TITRÁCIÓS VIZSGÁLATOK  
4. KÖZHASZNÁSI FELMÉRÉS

**VÍZANALITIKA**  
mobil, laboratóriumi és on-line kivitelben

**WTW**

**ULTRA TISZSÁG VÍZ  
CSAPVÍZTŐL TÁVOLVITÁSI ÚT**

**EASypure<sup>®</sup>  
direct RoDi**

TOC < 0,5 ppb  
18,2 MegOhm/cm  
ASTM Typ I  
minőégi víz

**automess**

**RÁDIOAKTÍV SUGÁRZÁSMÉRŐ  
MŰSZEREK ÉS MONITOROK**

**Desztilláció, extrakció, termokáció**

**behrr**

"NEHÉZ" MÉRÉSEK KÖNYVEDÉN

KOK, óceán, AOE, Szulfid, ammónium, AOC, POC, POC, Ammónium-nitrogén, cink, szulfid, ózón, OH-oxid, ózón, stb.

**Chromatography**

**Bioanalysis**

**NITROGEN / PROTEIN  
tartalom mérése**

Dumas módszer szerinti égetéssel  
automata analízatorokkal

**Rapid N**  
**Vario MAX**

A Dumas módszer előnyei:

- kevesebb anyag szükséges
- nagy mennyiségű minta
- kevesebb karbantartás

**KERN**

**Mérlegok**

Waagen und  
Prüfservice 2006

**AKTIVIT Kft.**

H-1581-Budapest, Pf.: 104.  
H-1145-Budapest, Pétervárad u. 14.  
Tel: 221-7865, 221-7866. Fax: 252-9940.

PROFESSZIONÁLIS MÉRÉSTECHNIKA ELÉRHETŐ ÁRON

**Elementar GmbH  
elemanalízatorok**

1 ppm...100% elemtartalomra

**VARIO** analízator család

**C-H-N-O-S-Cl**

**vario IRMS**  
**vario MAX**

ELEMALIZIS FELSOFOKON

**AUTOMATA VÍZMINTAVEVŐK**

Hordozható (mobil) és telepített típusok  
A legújabb mérési technika nagy kapacitású  
Vízminőség-ellenőrzési pontokhoz  
Szap- és gázok mérésére  
Működésük gyors és pontos  
Ondatlanú működésük  
Külsőre is alkalmas

**FAKTEK**

**WTW**

**IO SENSOR NET**

**MULTI-PARAMETERES  
MULTI-MÉRŐHELYES**

**VÍZMINŐSÉG MONITOR  
SZENNYVÍZ-MINŐSÉG ELLENŐRZŐ**

- csak 2-eszer kalibráció
- moduláris felépítés
- moduláris rendszer
- programozható
- automatikus szennyeződés-ellenőrzés
- elgázolt jelekkel az analízatorok
- programozható beállítások
- numerikus és alagszám megjelenítés
- faktorkorrekciós grafikus LCD kijelző
- egyedi igények szerint konfigurálható

PH OLSÓTT ÖRZÉK VEZÉRKÉPESSEK. REDOKPOTENCIÁL.  
KÖNYSZÉKSÉLET ZÁRÁSAS. ÁRÓKNA, NYRÁK  
LEBŐGŐNYV-TARTALÓK. KOK. BOK. TOC.

**ON-LINE MÉRÉSTECHNIKA**

**WTW**

MULTIPARAMETERES ELKÉPZELT  
ON-LINE MÉRŐK

MULTIPARAMETERES  
AUTOMATA ANALÍZATOROK

# LABORTECHNIKA, ON-LINE MÉRÉSTECHNIKA



# Nehézfémkötő, flagellinalapú receptorok

## Flagellin-based receptors for heavy metal binding

Sebestyén Anett<sup>1</sup>, Végh Barbara<sup>2</sup>,  
Szekrényes Ákos<sup>1</sup>, Kurunczi Sándor<sup>3</sup>,  
Vonderviszt Ferenc<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> Pannon Egyetem, Műszaki Informatikai Kar,  
Nanotechnológia Tanszék, Veszprém;

<sup>2</sup> MTA SzBK Enzimológiai Intézete, Budapest;

<sup>3</sup> MTA Műszaki Fizikai és Anyagtudományi  
Kutatóintézet, Budapest

### Összefoglalás

A baktériumok flagelláris filamentumait felépítő flagellinfehérjéből Ni-ionok hatékony felismerésére és megkötésére képes receptorokat állítottunk elő. A flagellinalapú receptorok baktériumokkal nagy mennyiségben olcsón termeltethetők, a sejtek feltárása nélkül könnyen tisztíthatók, s emellett még a flagellin polimerizációs képességénél fogva rendkívül nagy felületi kötőhelysűrűségű filamentáris objektumok építésére is alkalmazhatók. Filamentáris receptoraink az ivóvizek nehézfémekkel való szennyezettségének mérésére szolgáló optikai szenzorok alapeleméül szolgálhatnak.

### Bevezetés

Az élő szervezetekben rengeteg példát láthatunk arra, hogy egyes fehérjék rendkívül specifikus molekulafelismerési sajátságokat mutatnak. Számos mikroorganizmusban található olyan fehérjék, amelyek átmenetifém- és nehézfémionok erős és szelektív megkötésére, azok közegbeli koncentrációjának precíz érzékelésére képesek [1,2]. Sok fémkötő fehérje esetében ismertek azok a szerkezeti motívumok, amelyek meghatározó szerepet játszanak az adott célmolekula felismerésében és megkötésében. Ezeket a rendelkezésre álló szerkezeti információkat kihasználva szeretnénk a baktériumok flagelláris filamentumait felépítő flagellinfehérjét megfelelően módosítva olyan mesterséges receptorokat létrehozni, amelyek nemcsak egy adott nehézfémion felismerésére és erős megkötésére képesek, de különféle nanométeres struktúrák is építhetők belőlük. A flagellinreceptorok az anti-

Sebestyén, A.<sup>1</sup>, Végh, B.<sup>2</sup>, Szekrényes, Á.<sup>1</sup>,  
Kurunczi, S.<sup>3</sup>, Vonderviszt, F.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> Department of Nanotechnology, Faculty of Information Technology, University of Pannonia, Veszprém; <sup>2</sup> Institute of Enzymology, Budapest; <sup>3</sup> Research Institute for Technical Physics and Materials Science, Budapest

### Summary

Receptors capable of efficient recognition and binding of Ni-ions were constructed from the flagellin protein, the building block of bacterial flagellar filaments. Flagellin-based receptors can be produced easily and inexpensively by bacteria, and purified with an ease without lysing the cells. Moreover, flagellins, due to their polymerization ability, can be used to build filamentous structures with a very high binding site density on their surface. Our filamentous receptors may serve as basic recognition units of optical sensors to measure heavy metal contamination of fresh waters.

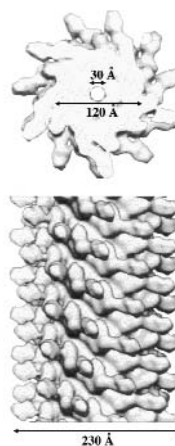
testeknél és más eddig ismert mesterséges fehérje-receptoroknál lényegesen egyszerűbben és olcsóbban, a baktériumsejtek feltárása nélkül, nagy mennyiségben előállíthatók.

### A flagellinfehérje jellemzése

A flagellumok a baktériumok mozgásszervei [3]. A bakteriális flagellumok helikális filamentumai a sejtmembránon kívül helyezkednek el, a flagellinfehérje több tízezer kópiájából épülnek fel [4] (1. ábra). A flagelláris filamentumok önszerveződő rendszerek, vagyis a flagellinmonomerek spontán módon képesek összeállni a natívval megegyező szerkezetű filamentumokká, megfelelő körülmények között. A flagellin polimerizációja könnyen kontrollálható [5,6], a kialakuló filamentumok a fizikai-kémiai behatásokkal szemben stabilisak, a proteázokkal szemben ellenállóak, szerkezetüket atomi precizitással ismerjük [7,8].

A *Salmonella* baktérium flagellinjje 494 aminosavból áll. Az aminosavszekvenciák összehasonlító vizsgálata felfedte, hogy a kb. 180 N-terminális és 100 C-terminális aminosavat magukban foglaló terminális régiók erős szekvenciális homológiát mutatnak, míg a centrális szegmensek nagymértékben variábilisak [9,10]. A különböző eredetű flagellinek molekulatömege széles határok között változik (28–65 kDa), a különbségek a centrális régió eltérő méretéből adódnak.

A flagelláris filamentumok flagellin alegységei 11 protofilamentumba rendeződnek [4], amelyek egymással szorosan kölcsönhatva alakítják ki a filamentumok szerkezetét (1. ábra). Csupán a flagellin alegységek konzerválódott terminális régiói vesznek részt a filamentumépítésben [7,8], míg centrális részük a filamentumok felszínén található, kívülről könnyen hozzáférhető D3 domént alkotja (2. ábra).



1. ábra A flagellin alegységek 11 protofilamentumba rendeződve építik fel a flagelláris filamentumok szerkezetét.

A D3 domén a szomszédos alegységekkel nincs kontaktusban, a filamentáris szerkezet kialakításá-



**Sebestyén Anett** 2003-ban a Veszprémi Egyetem (VE) környezetmérnöki szakán, majd 2004-ben a vegyész-mérnöki szakon szerzett diplomát. „A flagellinmolekula rendezetlen terminális régióinak szerepe az alegységek kölcsönhatásaiban” című dolgozatával 2. helyezést ért el a 2001 őszi VE TDK konferenciáján, amelyet az országos Környezetvédelmi TDK konferencián nyert különdíja követett. 2003-tól a Pannon Egyetem Környezettudományi Doktori Iskola PhD-hallgatójaként, az egyetem Nanotechnológia Tanszékének munkatársaként dolgozik, kutatási témája a „Flagellinalapú molekuláris objektumok létrehozása”.

**Székrenyes Ákos** ötödéves informatikus-vegyész hallgató a Pannon Egyetem Mérnöki Karán. A 2005-ben megrendezett ITDK Kémia és Vegyipar szekciójában III. helyezést ért el a „Flagelláris filamentumok konformációs állapotainak vizualizálása és felületi rögzíthetőségük vizsgálata” című dolgozatával. Jelenleg diplomamunkáját készíti a Pannon Egyetem Műszaki Informatikai Kar Nanotechnológia Tanszékén.



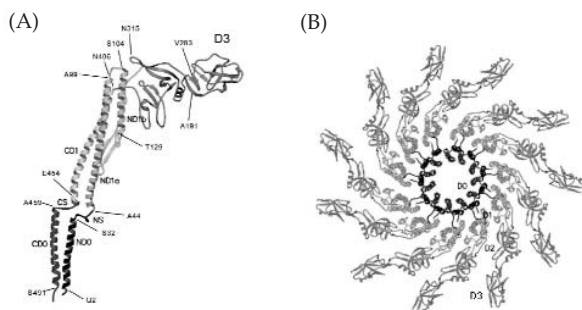
**Végh Barbara Márta** 2000-ben végzett az ELTE vegyész szakán, majd 2001-ben a kémiatanár szakon. 2001-től az ELTE Biológia Doktori Iskolájának Szerkezeti Biokémia Doktori Programjában vesz részt. Diplomáját az MTA SZBK Enzimológiai Intézetében készítette, ahol 1999 óta végzi kutatómunkáját. Jelenleg a flagelláris exportapparátus jellemzésével, illetve egy rekombináns fehérjék szekretálására képes bakteriális expressziós rendszer kifejlesztésén dolgozik.

**Kurunczi Sándor** az ELTE TTK kémia-fizika szakán végzett 1995-ben. 2002-ben szerzett PhD-fokozatot a Semmelweis Egyetem Elméleti Orvostudományi Doktori Iskolájában. Doktori munkája nagyérzékenységű analitikai eljárások kidolgozása volt higany-speciesek kimutatására környezeti mintákban. Posztdoktori ösztöndíjjal Japánban töltött egy évet, majd 2005-től a Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Kutatóintézet munkatársaként fehérjereceptorok szenzorfelületre történő immobilizációjával foglalkozik.



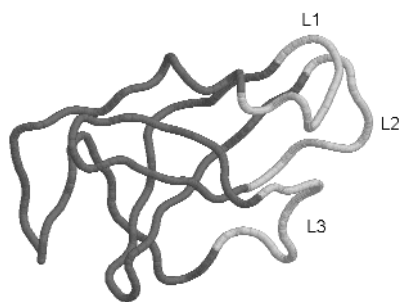
**Vonderviszt Ferenc** 1982-ben szerzett fizikusi diplomát az Eötvös Loránd Tudományegyetemen. Pályáját az MTA Enzimológiai Intézetében kezdte. Összesen több mint hat évet töltött vendégkutatóként Japánban. 1992 óta dolgozik a Pannon Egyetemen, jelenleg a Műszaki Informatikai Kar Nanotechnológia Tanszékének tanszékvezető egyetemi tanára. 1989-ben kandidátusi fokozatot szerzett, majd 2001-ben az MTA doktora lett. Széchenyi Professzori ösztöndíjas volt 1997 és 2000 között. Fő kutatási területe a bakteriális flagellumok szerkezetének és működésének jellemzése, illetve a fehérjék nanotechnológiai alkalmazása.

ban nem játszik szerepet (2. ábra). A D3 domén jó célpontot nyújt a génszabályozási beavatkozások számára, az önszerveződő képesség megzavarása nélkül könnyen módosítható.



2. ábra A flagellinalgységek szerkezete (A) és elhelyezkedése flagelláris filamentumokban (B) [11].

A D3 domén felépítésében a flagellin aminosavszekvenciájának 190–284 szegmense vesz részt. A D3 egy szokatlan  $\beta$ -hordó szerkezetű domén, amely négy  $\beta$ -láncból és egy rövid  $\alpha$ -helikális szegmensből épül fel [7,8]. A domén külső közeg felé néző – a filamentum tengelyétől legtávolabbra eső – felszínét három hurokrégió alakítja ki, nevezetesen a 205–213 (L1), a 236–244 (L2) és a 261–270 (L3) szegmensek (3. ábra). Ezen hurokrégiók aminosavszekvenciáit megváltoztatva módosíthatjuk a D3 domén felületi tulajdonságait, ezáltal ott specifikus kötőhelyek (töltésmintázatok, topográfia) kialakítására nyílik lehetőség.



3. ábra A D3 domén polipeptidvázának szerkezete a flagellin-fehérjében. A domén külső közeg felé néző felszínét a 205–213 (L3), a 236–244 (L2) és a 261–270 (L1) hurokrégiók alakítják ki.

### Flagellinalapú filamentáris receptorok létrehozása

A flagellin polimerizációs képességét megőrizve, a D3 domén módosításával kívánunk létrehozni flagellinalapú mesterséges receptorokat. A D3 do-

mént vázszerkezetként alkalmazva mesterséges receptorok többféle módon is előállíthatók: (1) a L1, L2, L3 hurokrégiók aminosavszekvenciáit módosítva mesterséges evolúciós eljárások (18–21) alkalmazásával; (2) a L1, L2, L3 hurokrégiók kötési tulajdonságainak célzott megváltoztatásával, fehérjetervezés alkalmazásával, más fehérjékben megfigyelt kötőszegmensek, illetve kívánt tulajdonságú oldalláncok beépítésével; valamint (3) specifikus kötési tulajdonságú molekulák, fehérjék D3 domén felületére való rögzítésével. Eredményeink szerint a D3 domén önmagában is stabilis szerkezet, amely mesterséges receptorok vázeleméül szolgálhat. A D3-alapú receptorok az IgG-molekulákkal szemben számos előnnyel kecsegtetnek, mert stabilisak, kisméretűek, továbbá baktériumokkal egyszerűen és olcsón termeltethetők.

Az eddig ismeretes mesterséges fehérjereceptorokhoz képest azonban igazán figyelemre méltó előnyöket a D3 doménjükben fenti módon módosított flagellinreceptorok előállítására és alkalmazására ígér. Elsősorban azért, mert a mesterséges flagellinreceptorokból filamentáris receptorstruktúrák építése válik lehetővé. Egyfajta flagellinből a polimerizációs folyamat precíz szabályozásával kívánt méretű filamentáris struktúrák építhetők (hosszuk a 0,1–10  $\mu\text{m}$  tartományba eshet), amelyek több száz, de akár több tízezer alegységet is tartalmazhatnak. Ezen filamentumok felületén rendkívül nagy kötőhelysűrűség érhető el, a kötőhelyek távolsága kb. 5 nm. Így az egyes receptoralegységek megfelelő sűrűségű térbeli elhelyezéséhez nincs szükség speciális hordozó mátrixra, s további előnyt jelent, hogy a filamentáris szerkezetet alkotó receptoregységek azonos lokális környezetben találhatóak. A nagy kötőhelysűrűség még kis molekulatömegű ligandumok esetén is (pl. nehézfémionok) reményt nyújt a kötődés kimutatására, s alacsony koncentrációjú ligandumok megkötését is lehetővé teszi.

### Ni- és As-kötő flagellinvariánsok létrehozása

A természetes Ni-kötő fehérjékben a Ni-ionok koordinálását általában több (2–4) hisztidinoldallánc imidazolcsoportja végzi. Számítógépes grafika és molekulamodellizálás alkalmazásával megvizsgáltuk, hogy a flagellin variábilis D3 régiójában mely



aminosavak oldalláncai vannak megfelelő orientációban és távolságban ahhoz, hogy génszészeti technikákkal hisztidinre cserélve őket, fémkötő centrumot alakíthassunk ki. Az alábbi oldallánc-kombinációk hisztidinre való cserélése mellett döntöttünk: (1) Leu 209, Val 235, Lys 241; (2) Leu 209, Val 235, Lys 241 és Ser 264; (3) Leu 209, Gly 211 és Lys 241.

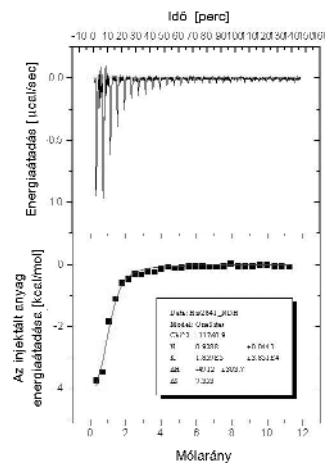
A bakteriális arzénkötő fehérjék (ArsR fehérjék) esetén ismeretes, hogy az arzenition specifikus megkötéséért felelős polipeptidszegmens aminosavszekvenciája SGELCVCDLCTALDQ. A rendelkezésre álló adatok szerint ez a szegmens erősen nyújtott konformációjú, végeinek távolsága közel 20 Å. Ezt az arzénkötő szegmenst kívántuk a flagellin D3 doménjébe beépíteni. Számítógépes molekulamodellézéssel segítségével megállapítottuk, hogy a D3 domén Ala262–Thr273 öblös felületi hurokrégiója megfelelő vázként szolgálhat az arzénkötő motívum befogadására. Az Ala262–Thr273 szegmenst a D3 doménből kivágtuk, majd ennek helyére ültettük be az arzénkötő motívumot.

A megtervezett Ni-kötő flagellinvariánsokat irányított mutagenézissel alkalmazásával állítottuk elő, míg az As-kötő mutánsokat többlépcsős PCR segítségével készítettük el. A mutáns géneket szekvenálással ellenőriztük, majd flagellindeficiens SJW2536 *Salmonella*-törzsbe transzformáltuk őket. Valamennyi esetben a mutáns flagellinek nagy mennyiségben termelődtek, és hatékonyan exportálódtak a baktériumsejtekből. A mutáns flagellinek megtartották polimerizációs képességüket, ammónium-szulfát hatására a natívakkal megegyező morfológiájú filamentumokat képeztek.

Izotermális titrációs mikrokolorimetria alkalmazásával végeztük el a mutánsaink fémkötő képességének kvantitatív jellemzését. Legerősebb Ni-kötést a Leu209–Val235–Lys241–Ser264 oldalláncok hisztidinre cserélésével létrehozott variáns mutatott (4. ábra). Ebben az esetben a kötődés disszociációs állandója  $K_d = 5 \mu\text{M}$  volt, s egy flagellinalagységhez egy Ni-ion kötődött. Az előállított As-kötő flagellinmutáns esetén ugyancsak  $\mu\text{M}$ -os egyensúlyi állandójú arzenitkötést mutatott.

### Flagelláris filamentumok felületi rögzítése

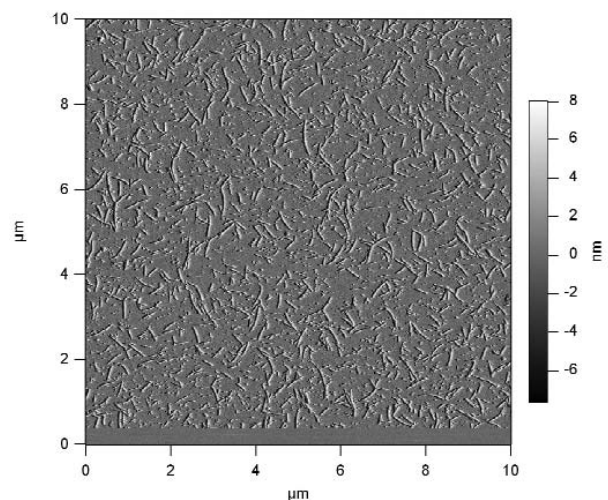
Kutatásaink fontos célja, hogy a flagellinalapú nehézfémkötő receptorokból nagy felületi kötő-



4. ábra A Leu209–Val235–Lys241–Ser264 oldalláncok hisztidinre cserélésével létrehozott flagellinvariáns Ni-kötésének vizsgálata izotermális titrációs kalorimetriás módszerrel.

helysűrűségű filamentáris receptorstruktúrákat építsünk, majd azokat optikai érzékelők felületére rögzítve olyan szenzorelemeket hozunk létre, amelyek optikai úton képesek detektálni a mintában található nehézfémek kötődését. Előkísérleteket végeztünk annak kiderítése érdekében, hogy flagellinból épített filamentumok miként rögzíthetők különböző tulajdonságú felületeken.

Megfigyeléseink szerint a flagelláris filamentumok a sima tisztított üvegfelülethez preferáltan egyik végüknél fogva erősen kitapadnak, s a felület nagy filamentumsűrűséggel lefedhető. A tárgyalemez 0,06 mg/ml koncentrációjú filamentummintával 20 mM Trisz és 150 mM NaCl



5. ábra Flagelláris filamentumokkal borított nitrocellulóz-felület 3D AFM-felvétele.

(pH: 7,8) pufferben 10 percig inkubálva 60%-ot meghaladó lefedettséget értünk el. Fluoreszcens festékekkel (FITC) jelölt filamentumokat használva teljes belső visszaverődési fluoreszcens (TIRF) spektroszkópia segítségével jelenítettük meg a beborított felületet.

Magas lefedettséget tapasztaltunk még az 1%-os nitrocellulóz-oldattal kezelt felületek esetén is. A flagelláris filamentumok teljes hosszukban ráfeküdtek erre a hidrofil tulajdonságú felületre (5. ábra). Kitapadásuk erőssége és stabilitása lehetővé tette, hogy atomerő mikroszkópiával (AFM) jellemezhessük a felület lefedettségét. 0,06 mg/ml koncentrációjú filamentummintát alkalmazva 10 perc inkubálás után kb. 20%-os lefedettséget sikerült elérnünk. Mindez azt jelenti, hogy a felületen a Ni-kötő helyek átlagos sűrűsége  $\sim 10^4/\mu\text{m}^2$ .

## Összefoglalás

Kutatásaink megmutatták, hogy a flagellin polimerizációs képességének megőrzése mellett a D3 domén szerkezetének számítógépes molekulamodellézésen alapuló módosításával nehézfémek megkötésére képes receptorfehérjék állíthatók elő. A flagellinreceptorokból képzett, nagy felületi kötőhelysűrűséggel rendelkező filamentumok alkalmas hordozóra egyszerűen rögzíthetők. Távlatos célkitűzésünk, hogy az L1–L3 hurok régiók aminosavszekvenciáit módosítva mesterséges evolúciós eljárások [12,13] alkalmazásával hozzunk létre – az antitesteknél előnyösebb tulajdonságokkal rendelkező – adott célmolekulák hatékony felismerésére és megkötésére képes receptorokat.

## Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozunk Dr. Keller Mayer Miklósnak (PTE ÁOK), aki laboratóriumában lehetővé tette az atomerő mikroszkópos vizsgálatok elvégzését. Köszönjük Barna Lászlónak és Gyimesi Gergelynek (MTA Enzimológiai Intézet) a Ni-kötő flagellinreceptorok tervezésében nyújtott segítségüket, valamint Muskotál Adélnak a kalorimetriás mérésekben való közreműködését. Kutatásainkat az NKFP 3A/079/2004 pályázat támogatta.

## Irodalomjegyzék

- [1] Busenlehner, L. S., Penella, M. A., Giedroc, D. P. (2003) The SmbB/ArsR family of metalloregulatory transcriptional repressors: structural insight into prokaryotic metal resistance. *FEMS Microbiol. Rev.*, **27**: 131–143.
- [2] Romero-Isart, N., Vasák, M. (2002) Advances in the structure and chemistry of metallothioneins. *J. Inorg. Chem.*, **88**: 388–396.
- [3] Macnab, R. M. (1995) Flagella and motility. In: *E. coli and Salmonella. Cellular and molecular biology.* (Neidhart, F. C., Ed.) (American Society for Microbiology, Washington D.C., USA) pp. 123–145.
- [4] Namba, K., Vonderviszt, F. (1997) Molecular architecture of bacterial flagellum. *Quart. Rev. Biophys.*, **30**: 1–65.
- [5] Asakura, S. (1970) Polymerization of flagellin and polymorphism of flagella. *Adv. Biophys.*, **1**: 99–155.
- [6] Asakura, S., Eguchi, G., Iino, T. (1964) The reconstitution of bacterial flagella *in vitro*. *J. Mol. Biol.*, **10**: 42–56.
- [7] Samatey, F. A., Imada, K., Nagashima, S., Vonderviszt, F., Kumasaka, T., Yamamoto, M., Namba, K. (2001) Structure of the bacterial flagellar protofilament and implications for a switch for supercoiling. *Nature*, **410**: 331–337.
- [8] Yonekura, K., Maki-Yonekura, S., Namba, K. (2003) Complete atomic model of the bacterial flagellar filament by electron cryomicroscopy. *Nature*, **424**: 643–650.
- [9] Joys, T. M. (1985) The covalent structure of the phase-I flagellar filament protein of *Salmonella typhimurium* and its comparison with other flagellins. *J. Biol. Chem.*, **260**: 15758–15761.
- [10] Wei, L. N., Joys, T. M. (1985) Covalent structure of three phase-I flagellar filament proteins of *Salmonella*. (1985) *J. Mol. Biol.*, **186**: 791–803.
- [11] Yonekura, Y., Maki-Yonekura, S., Namba, K. (2003) Complete atomic model of the bacterial flagellar filament by electron cryomicroscopy. *Nature*, **424**: 643–650.
- [12] Tao, H., Cornish, V. W. (2002) Milestones in directed enzyme evolution. *Curr. Op. Chem. Biol.*, **6**: 858–864.
- [13] Amstutz, P., Forrer, P., Zahnd, C., Pluckthun, A. (2001) *In vitro* display technologies: novel developments and applications. *Curr. Op. Biotech.*, **12**: 400–405.

## EGYESÜLETI HÍREK



A Tankó Béla Alapítvány – a Magyar Biokémiai Egyesület Elnökségének javaslatára – az Egyesület legrangosabb elismerésével,

**Tankó Béla-díjjal** tüntette ki egyesületünk örökös tiszteletbeli elnökét:

*Friedrich Péter*

(MTA Szegedi Biológiai Központ Enzimológiai Intézete)

az egyesület vezetésében végzett több évtizedes odaadó munkájáért.

A Magyar Biokémiai Egyesület nevében szívből gratulálunk a kitüntetettnek.

# Mikroorganizmusok fagocitaellenes védekezésének molekuláris mechanizmusai

## Molecular mechanisms underlying the antiphagocytic defence of microorganisms

Rada Balázs<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet, 1088 Budapest, Puskin u. 9., Pf. 259

<sup>2</sup> National Institutes of Health, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, Laboratory of Host Defenses, 12441 Parklawn Drive, Rockville, MD 20852, USA, E-mail: radab@mail.nih.gov

### Összefoglalás

A patogén mikroorganizmusok és az ember között létezésünk kezdete óta állandó harc folyik. Az emberi szervezet immunrendszerének szerepe a test saját sejtjeinek védelme a külső betolakodókkal szemben. A legtöbb esetben sikerül is az idegen élőlényeket elpusztítani, ám néhány esetben mégis a vírusok, baktériumok, protozoák győznek. A baktériumok győzelmének kulcsa legtöbbször az, ahogyan elkerülik, hogy a természetes immunrendszer falósejtjei elpusztítsák őket. Ezt számos, ötletes stratégiával sikerül elérniük. Közülük néhánynak már a molekuláris háttere is ismert.

A kórokozók gazdaszervezet-beli túlélésének egyik lehetősége, hogy a test olyan területein telepsznek meg, ahova a fagociták nem jutnak el (bőrfelszín, húgyhólyag, egyes mirigyek belső tere). Más mikroorganizmusok álcázzák magukat, elfedik idegen felszínüket az emberi szervezetben sajátként azonosított anyagokkal, és így elkerülik, hogy az immunrendszer sejtjei és molekulái felismerjék őket. Ezt a trükköt alkalmazza a *Staphylococcus aureus*, ugyanis sejthez kötött koaguláz enzime vérlavadást indukál, és így az alvadék befedi a baktérium felszínét. A vérbajt okozó *Treponema pallidum* pedig fibronektint köt meg a felszínén.

### Indukált fagocitózis

Jól bevált módszer, hogy a baktériumok a test más, nem az immunrendszerhez tartozó sejtjeibe vetetik

Rada, B. K.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Semmelweis University, Department of Physiology, H-1088 Budapest, Puskin u. 9., POB 259, Hungary

<sup>2</sup> National Institutes of Health, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, Laboratory of Host Defenses, 12441 Parklawn Drive, Rockville, MD 20852, USA, E-mail: radab@mail.nih.gov

### Summary

Since the beginning of our existence there has been a continuous fight between pathogenic microorganisms and man. The role of the human body's immune system is protection of our own cells against outside invaders. In most cases it succeeds to destroy the foreign creatures but sometimes the viruses, bacteria and protozoa win. The key element of the victory of bacteria is mostly the evasion of destruction by phagocytes of the innate immune system. They manage it by means of several tricky strategies. In some cases the molecular basis for evasion of these innate immune defense systems is already known.

fel magukat indukált fagocitózissal. Erre jó példát szolgáltatnak a vérhast okozó, Gram-negatív Shigella-fajok. A bélbe bejutott baktériumok fagocitózisra készítetik a vastagbélhámsejteket. Ennek módja azonban nem a klasszikus „cipzár-modell”, hanem makropinocitózis. Ekkor a virulencia-plazmidon kódolt és a bélhámsejtekbe bejuttatott, effektor fehérjék a citoszkeleton átalakítását eredményező jelátviteli folyamatokat indítanak meg a célsejtben, amelyek filo- és lamellipodiumok megjelenését vonják maguk után a sejtfelszínen. Így a kórokozó nagyobb mennyiségű extracelluláris folyadékkal együtt kerül be a fagoszómába, miután a keletkezett membránkitüremkedések körbeölelték. Shigellák esetében eddig három végrehajtó fehérjét sikerült azonosítani. Az IpaC jelű fehérje más funkcióin kívül az aktinpolimeri-

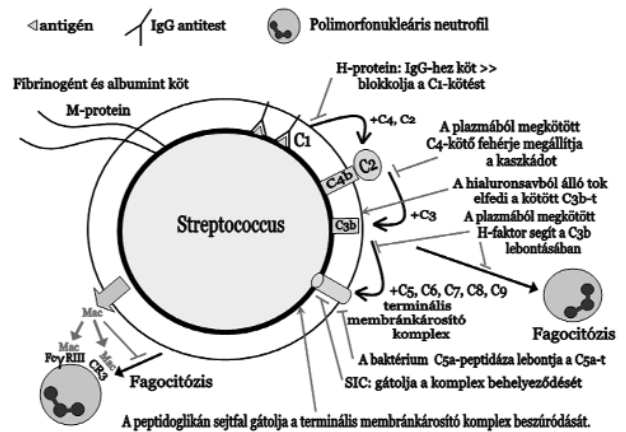


záció kiváltásáért is felelős. Az IpaA nevű faktor a bélsejtek vinculinmolekuláihoz kötődik és aktiválja azokat. Ennek eredményeképpen az aktinfilamentumok átszerveződnek, és megjelenik a fagocitotikus csésze. Az IpgD effektor foszfatidil-inozitol-foszfátáz-aktivitással rendelkezik, ami valószínűleg a sejtmembrán–citoszkeleton közötti kapcsolat relaxációját biztosítja, így az aktinpolimerizáció folyamatát segíti elő a belépés kezdetén. A sejtvezérlés működésének befolyásolását a bakteriális proteinek számos fehérje (src-kináz, a Rho család kis G-fehérjéi) aktivációján/deaktivációján keresztül érik el.

## A fehérvérsejtek kemotaxisának módosítása

Bizonyos patogének a fagocitasejtek kemotaxisát befolyásolják. Az A-típusú *Streptococcus*ok felületén található C5a-peptidáz a C5a kemotaktikus faktort bontja el (1. ábra). A C5a a baktérium felületén a komplementaktiváció folyamán keletkezik, és neutrofil granulociták helyszínre csalogatásáért felelős – degradációja ezért késlelteti a fehérvérsejtek megérkezését. *Mycobacterium*- és *Clostridium*-fajok is élnek a kemotaxis késleltetésének taktikájával.

Meglepő módon néhány mikroba túlélésének kulcsa nem a leukociták kemotaxisának gátlása, hanem – éppen ellenkezőleg – annak elősegítése. Hogyan is növelheti ez a kórokozó túlélésének esélyeit? Nagyon érdekes példát szolgáltatnak erre a kala-azar, a bőr- és a nyálkahártya-leishmaniasis kórképéért felelős *Leishmania*-fajok (2. ábra). Eme ostoros egysejtűek promasztigóta alakjai a szervezetbe hatolás helyén egy kemotaktikus vegyület, az *Leishmania* kemotaktikus faktor (LCF) termelésébe kezdenek. Ez vonzza a neutrofileket,



1. ábra *Streptococcus*ok fagocitaellenes mechanizmusai. Az A-típusú *Streptococcus* baktériumok számos szekretált és felszíni fehérjével, ellenálló tokkal akadályozzák meg, hogy elkerüljék a komplementrendszer és a falósejteket.

de nem hat a monocitákra és az NK-sejtekre. A *Leishmania*-fertőzés neutrofilekben az interleukin-8 (IL-8) nagymértékű termelését indukálja, amely kemotaktikus hatásánál fogva még több granulocitát vonz a helyszínre (2. ábra). Így pozitív visszacsatolással rövid időn belül számos neutrofil jelenik meg az egysejtűek közelében. A megérkezett neutrofilek bekebelezik a protozoákat, a behatolók elpusztítására azonban nem képesek. Mindezen folyamatok eredményeképpen az egysejtűek hamar bekerülnek a fehérvérsejtekbe, és elbújnak az immunrendszer egyéb elemei elől. Ez annyiban speciális eset, hogy a menedékként használt gazdasejt nem egy védelmi funkcióval nem rendelkező testi sejt (mint a korábban említett endotél- vagy epitelsejtek), hanem az immunrendszer hivatásos, baktériumölő falósejtje. A granulociták rövid életű sejtek, életciklusuk természetes része, hogy küldetésük végén programozott sejthalállal pusztulnak el. A *Leishmaniák* a



**Rada Balázs** 1998-ban végzett biológusként az Eötvös Loránd Tudományegyetem Természettudományi Karán. 1999 és 2005 között a Semmelweis Egyetem Élettani Intézetében dolgozott, eleinte az egyetem Molekuláris Orvostudományok Doktori Iskolájának nappali tagozatos hallgatójaként, majd az intézet akadémiai munkacsoportjának tagjaként. Gyakorlatvezetőként részt vett az intézet magyar és német nyelvű oktatásában. Doktori munkáját 2004-ben védte meg „A NADPH-oxidáz szerepe neutrofil granulociták kalcium-anyagcseréjében és baktériumölésében” címmel. 2005 szeptembere óta az Egyesült Államok *National Institutes of Health* kutatóintézetében dolgozik posztdoktori ösztöndíjasként. Érdeklődési témái: a NOX-család enzimeinek a veleszületett immunitásban betöltött szerepe, illetve mikroorganizmusok túlélési stratégiái az emberi szervezetben.

kaspáz-3-aktivitását csökkentve késleltetik neutrofilek apoptózisát, és így érik el, hogy 2–3 napig a neutrofilekben vendégeskedhessenek. Hosszabb távon viszont újabb gazdák után kell nézniük. Néhány mikroba (így a *Leishmania* is) képes ugyan az apoptózis folyamatát neutrofilekben késleltetni, de eddig mindössze egyetlen baktériumcsoportról, az Ehrlichiáról bizonyították be, hogy a neutrofilek a végleges gazdasejtjeik. A *Leishmania*-fertőzés neutrofilekben gátolja az interferon- $\gamma$  termelését, ezért az NK-sejtek és az 1-es típusú Th-limfociták késleltetve érkeznek a fertőzés helyére. Ugyanakkor serkentik a makrofág gyulladási fehérjék (MIP), a MIP-1 $\alpha$  és MIP-1 $\beta$  szekrécióját, emiatt a fagociták második hullámaként makrofágok érkeznek a helyszínre. A makrofágok bekebelezik az apoptotizált granulocitákat, és ezzel a *Leishmaniák* – a neutrofileket csak mint trójai falovat használva [1] – végleges gazdáikba, a makrofágokba jutnak (2. ábra).

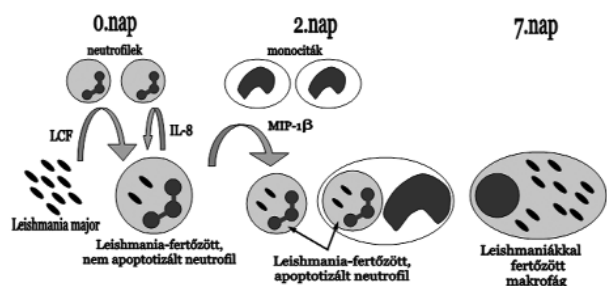
## A fagocitózis gátlása

Az előző, fagocitózist kiváltó stratégiákkal szemben a mikrobák többsége éppen annak megakadályozására törekszik, hogy a fagociták bekebelezék őket. Az A-típusú *Streptococcus*ok nagyon jó példái ennek, ugyanis ezek a baktériumok számos eszközzel képesek fagocitózisukat meggátolni (1. ábra). Gram-pozitív mikrobák lévén 100–120 nm vastag peptidoglikán sejfalal rendelkeznek, ami már eleve megvédi őket a komplementrendszer C5, C6, C7, C8 és C9 fehérjéiből álló, terminális membránkárosító komplexétől. A baktériumok külső felszínén található meg egy fontos virulenciafaktor, az M-protein, amely egy  $\alpha$ -helikális szerkezetű, két polipeptidláncból álló molekula. Ez a fehérje albumin, fibrinogén és néhány más plazmafehérje megkötésére képes. Ezzel a molekuláris mimikriával a baktérium elrejtje idegen felszínét az immunrendszer falósejtjei és komplementrendszerének elől.

A *Streptococcus*ok harmadik védelmi vonalaként számos felszíni fehérje szolgál, amelyek a komplementaktiváció több helyén avatkoznak be (1. ábra). Bakteriális fehérjék kapcsolódnak a prokarióta sejt felszínét felismert immunglobulinokhoz, megakadályozva ezzel a komplementkaskád első, C1 komponensének kötődését és így a komplementrendszer aktiválódását. Az M-protein a

plazmából komplementinaktiváló faktorokat (C4-kötő fehérje, H-faktor) is megköt, melyek elősegítik a C3b és C4b lebomlását. A baktériumsejtet hialuronsavból álló tok veszi körül, amely megnehezíti a C3b fragmens kötődését. Miután a C3b (és az iC3b is) fontos opsonin, amelyek felismerésére a falósejtek specifikus receptorokkal rendelkeznek, ez utóbbi két lépés gátolja a kórokozók megjelölését és fagocitózist. Mindössze néhány éve felfedezett újabb *Streptococcus*-virulenciafaktor, a szekretált Mac-fehérje a fagociták felszínén található és az iC3b komplementfragment felismeréséért felelős 3-as típusú komplementreceptor (CR3)  $\alpha$ -láncához, a CD11b-hez kötődik, és annak működését gátolja [2]. Ugyanez a fehérje blokkolja az egyik, az immunglobulin-G felismeréséért felelős receptort (Fc $\gamma$ RIII) is, így nemcsak a baktérium komplementfüggő, hanem az IgG-közvetített fagocitózist is kivédi. Az *Streptococcus*-eredetű komplementgátló (SIC) fehérje a membránkárosító komplexhez kötődve meggátolja annak behelyeződését a baktérium membránjába (1. ábra).

A fagocitózist gátló poliszacharidokkal – a *Streptococcus*ok mellett még – számos mikrobafaj rendelkezik: pl. a *Haemophilus influenzae*, a *Treponema pallidum*, a *Klebsiella pneumoniae*, valamint a *Cryptococcus neoformans*. *Staphylococcus*ok sejtéhez kötött és szolubilis protein-A-molekulái az IgG antitestek Fc-régiójához kötődve védik ki az antitest opsonizáló hatását. Más baktériumok



**2. ábra** *Leishmania major* – a „trójai faló hipotézis”. A baktériumok neutrofil granulocitákat használnak fel bejutásukhoz végleges gazdasejtjeikbe, a makrofágokba. Neutrofilekben gyorsítják a fagocitózist, kivélik az oxidatív támadást, késleltetik az apoptózist és növelik az IL-8-termelést. Emiatt bennük túlélnek, és még újabb neutrofileket vonzanak a helyszínre. Az apoptotizált neutrofileket és velük együtt a *Leishmania*-sejteket végül makrofágok fagocitálják [1]. LCF: *Leishmania* kemotaktikus faktor; IL-8: interleukin-8; MIP-1 $\beta$ : makrofág gyulladási protein 1 $\beta$ .

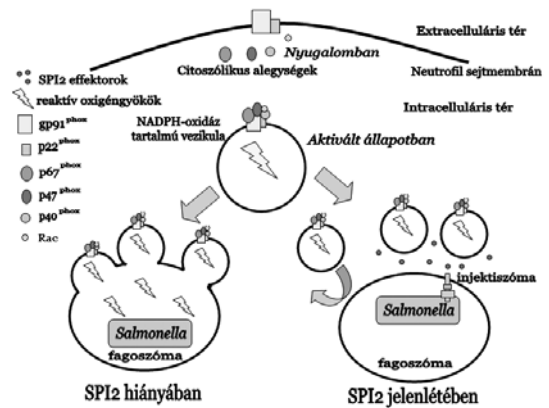
plazmidon kódolt szekrécións apparátussal juttatnak be végrehajtó fehérjét az immunsejtekbe, és a jelátvitel több pontján beavatkozva védik ki bekebelezésüket és elpusztításukat.

### Intracelluláris paraziták

Mikrobák népes társasága képes falósejtekben hosszabb ideig túlélni, sőt még szaporodni is. Ezek a mikroorganizmusok a fehérvérsejtek obligát vagy fakultatív, sejten belüli élősködői. Többféle megoldás született az evolúció során arra, hogy hogyan védhetik ki, illetve kerülhetik meg ezek a baktériumok, gombák és egysejtűek a fehérvérsejtek antibakteriális anyagainak pusztító hatását.

Néhányan azt az utat választják, hogy nem várják meg, míg a fagoszóma a leukociták lizoszómáival fuzionál, hanem fagocitózisuk után rövid időn belül elhagyják a fagoszómát, a citoplazmába lépnek be, és ezzel megmenekülnek a lizoszomális enzimek és gyökök támadásától. Így cselekednek – fagocita és nem fagocita sejtekben egyaránt – a már korábban említett Shigellák. A baktérium egyik felszíni fehérjeje, az IcsA felelős azért, hogy a fagoszóma elhagyása után a patogén a gazdasejt citoskeletonjának segítségével halad előre a citoplazmában, illetve jut át a szomszédos hámsejtekbe. Ez a fehérje aktinpolimerizációt indukál a baktérium közelében, ami előrehajtja őt a plazmában. Ez a jelenség fluoreszcens vagy elektronmikroszkópos felvételeken jól láthatóvá tehető, és mint a baktériumsejt mögötti aktincsóva vagy aktinüstök figyelhető meg.

A Shigellák ezzel a bélhámsejteket használják búvóhelyként. Számos baktériumot azonban nem bélhámsejtek, hanem makrofágok fagocitálnak, amelyek megölésükre azonban nem képesek, mert a kórokozók a kaszpáz-1 aktiválásán keresztül apoptózisra készítetik a falósejteket. Az elpusztult makrofágokból kiszabaduló baktériumok pedig újfent a bálhámsejteket fertőzik meg. A Shigella-fertőzött makrofágok nagy mennyiségű IL-1 $\beta$ - és IL-18-molekulát termelnek, ami a gyulladási folyamat elindulását eredményezi a baktériumok behatolásának helyén. A Shigellákon kívül még a Listeriára és a Rickettsiákra jellemző, hogy képesek aktincsóvával a gazdasejten belüli előrehaladásra. A Rickettsiák obligát sejten belüli élősködők – szemben a Listeriával és a Shigellákkal –, mindig az



**3. ábra** A *Salmonella* baktérium gátolja a granulúm-fagoszóma fúzióját. Nyugalmi körülmények között a NADPH oxidáz alegységei a sejt- és granulúmmembránban (gp91<sup>phox</sup>, p22<sup>phox</sup>), illetve a citoplazmában (Rac, p67<sup>phox</sup>, p47<sup>phox</sup>, p40<sup>phox</sup>) találhatóak meg. Partikuláris stimulus (pl. fagocitált baktériumsejt) hatására a citoszolikus alegységek kihelyeződnek a membránalegységekhez, összeszerelődik az enzimmolekulák, és megindul a szabadgyök-termelés az intrafagoszómális térbe. Az SPI2 plazmidon kódolt 3-as típusú szekrécións rendszer effektora megakadályozzák a NADPH oxidáz tartalmú granulúmszerkezet összeolvadását a fagoszómával, így védi ki a baktérium a fehérvérsejt oxidatív támadását.

egyik sejtről a másikra vándorolva fertőznek tovább.

A sejten belüli túlélés másik lehetséges megoldása az, ha a kórokozó képes a fagoszóma–lizoszóma (granulúm) fúziójának megakadályozására. Így a falósejtek patogénkárosító anyagai nem találkoznak a betolakodóval, és az eredetileg életveszélyesnek szánt fagoszóma egy, az immunrendszer vigyázó szeméi elől elrejtett, biztonságos fiúlkévé válik. Ezt a taktikát számtalan kórokozó alkalmazza. Az egyik legjobban ismert példát a *Salmonella*-fajok szolgáltatják (3. ábra). Ezek a baktériumok általában a bél felől támadják meg szervezetünket. A Shigellákhoz hasonlóan indukált makropinocitózissal vetetik fel magukat a bélhámsejtekbe. Ebben az SPI-1 nevű virulenciaplazmidon kódolt fehérje döntő fontosságúak [3]. A baktériumokat falósejtek, főleg makrofágok is bekebelezik a bélnyálkahártyában. A falósejtek egyik leghatásosabb antimikrobiális fegyvere, hogy a fagoszómába jutott baktériumot reaktív szabad gyökökkel támadják meg. A reaktív szabad vagy oxigéngyökök képzésének kulcsenzime a NADPH-oxidáz, amely a makrofágok lizoszómáinak, illetve a neutrofil granulociták némely granulúmmainak membrán-



jában is megtalálható. A fagocitózist követően – ideális esetben – a fagoszóma összeolvad a lizoszómával, a citoszolikus alegységek membránhoz helyeződésével aktiválódik a NADPH-oxidáz, és oxigénmolekulákból szuperoxid-anionokat képez (3. ábra). A O<sub>2</sub>-anionok önmagukban csak gyenge baktériumkárosító hatással bírnak, de a belőlük keletkező, illetve a segítségükkel nitrogén-monoxidból létrejövő, további gyökök (hidrogén-peroxid, hipoklórossav, peroxi-nitrit) már nagyon reakcióképesek, és a baktériumok anyagainak széles spektrumával reakcióba lépve károsítják azokat.

Salmonella baktériumok elpusztításához szükség van az oxidatív ölü mechanizmusokra, amit az is bizonyít, hogy a NADPH-oxidáz veleszületett hiányában, krónikus granulomatózisban szenvedő betegekben a Salmonellák gyakran okoznak fertőzéseket. Nem csoda, ha a baktériumok igyekeznek elkerülni ezt az oxidatív támadást. Ebben segíti őket egy másik, SPI-2 nevű géncsoport, amelyek effektorfehérjéket és az ő célsejtbe juttatásukért felelős szerkezeti fehérjéket kódolnak. Ez a patogenitási sziget csak akkor aktiválódik a baktériumokban, amikor azokat már bekebelezték a makrofágok. Az SPI-2 gének aktiválódásának eredménye, hogy a fagoszóma nem fuzionál a NADPH-oxidázt tartalmazó lizoszómákkal (3. ábra). Ennek pontos mechanizmusa még nem ismert. Biztos, hogy az egyik SPI-2 géntermék, az SPiC fehérje kell a folyamathoz, mert hiányában megtörténik az összeolvadás. Egy másik mechanizmus a sejtvázzal kapcsolatos. Normálisan ugyanis a citoskeleton hamar leépül a fagocitózis végén, hogy lehetővé tegye a lizoszómáknak a fagoszómához történő hozzáférést. Salmonellákban bizonyított egy SPI-2-függő mechanizmus, amely késlelteti a fagocitózist követő aktindepolymerizációt és ezzel a granulomfúziót. A harmadik ismert tény, hogy a tumornekrozis faktor receptorával (TNF-R) nem rendelkező, génkiütött egerek sokkal fogékonyabbak a Salmonella-fertőzésre, makrofágjaik gyengébben ölik a baktériumokat és a NADPH-oxidázt tartalmazó granulomok fagoszómával történő fúziója elmarad. Mindemellett oxigén- és nitrogéngyökképzésük normális, ezért ezek alapján felvethető, hogy a TNF-receptoron keresztüli szignalizáció fontos a lizoszómák célba juttatásában, és hogy a Salmonella baktériumok egyik SPI-2 faktora ebbe a jelátviteli útba avatkozik bele [3]. Mycobak-

tériumok és Legionellák is ezt a stratégiát alkalmazták.

A falósejteken belüli túlélés és szaporodás további lehetősége, hogy a felvett mikroorganizmusok a fehérvérsejt támadóeszközei közül semlegesítenek többet-kevesebbet. A fagoszómával ebben az esetben egyesülnek a lizoszómák. Egyes mikrobák (*Leishmania donovani*, *Legionella pneumophila*, *Plasmodium falciparum*) a NADPH-oxidáz enzim összeépülését akadályozzák meg azért, hogy az aktivációhoz szükséges protein-kináz C enzimet gátolják. A humán ehrlichiosis kórokozója, az *Anaplasma phagocytophila* baktérium kizárólagos gazdasejtjei emberben a neutrofil granulociták. Túlélésük kulcsa, hogy kivédi a fehérvérsejtek oxidatív stresszét. A *Salmonella typhimurium* baktérium virulenciájának egyik fontos tényezője, hogy több szuperoxid diszmutáz enzimet is termel. Közös jellemzőjük, hogy a NADPH-oxidáz által termelt szuperoxid-anionokat alakítják át hidrogén-peroxiddá, amely membránpermeabilis, tiolokkal, hem-fehérjékkel, lipidekkel és DNS-sel reakcióba lépni képes oxidáns. Ugyanez a faj, de más patogének is rendelkeznek kataláz enzimekkel, amelyek a hidrogén-peroxidot vízzé és oxigénné képesek átalakítani, és ezáltal a szabad gyököket véglegesen semlegesíteni.

A mikrobiális DNS kimondottan fontos célpontja a szabad gyökök támadásának. Az oxigén- és nitrogéngyökök miatt keletkezett DNS-hibák kijavításán javítóenzimek dolgoznak. Hiányukban (pl. *Salmonella typhimurium* recA és recB, rekombinációdeficiens törzsei) a makrofágok sikeresen ölik meg a baktériumokat. *Escherichia coli*, illetve Salmonella-fajokban leírtak olyan géneket, amelyek kimondottan oxidatív támadás esetén aktiválódnak, és így a mikroorganizmusok a transzkripció szintjén válaszolnak. Szuperoxid az SoxRS fehérjét, míg hidrogén-peroxid az OxyR fehérjét oxidálja. Mindkét oxidált protein olyan gének promóter szakaszaihoz kötődik, amelyek az oxidatív stressz kivédésében szerepelnek.

A reaktív gyökök semlegesítésén túl más mikroorganizmusok a fehérvérsejtek egyéb támadó molekulái ellen is felvértezték magukat. A Mycobacterium mikolsavat tartalmazó, saválló sejtfa, illetve az anthraxbacillus poli-D-glutamátból felépülő tokja passzívan áll ellen a leukociták proteá-

zainak és kationos peptidjeinek. A Gram-negatív baktériumok külső membránja és tokja a lizozim peptidoglikánt bontó hatása ellen nyújt megfelelő védelmet. A mikrobák vaskötő fehérjéi (sziderofórok) vasat vonnak el a neutrofil granulocita fehérjéitől. Ezáltal részben a fehérvérsejt vaskötő fehérjéit, peptidjeit gátolják, részben pedig az anyagcseréjükhez szükséges vasat szerzik így be.

### Extracelluláris toxinok

A mikroorganizmusok által használt számtalan külső toxin közül itt mindössze csak néhányat említenék meg. A *Streptococcus*ok sztreptolizinje, illetve a *Staphylococcus*ok leukocidinje a fehérvérsejt sejt- és granulummembránjainak lízisét eredményezi. Emiatt a granulenzimek kiszabadulnak a citoszólba, és saját magát támadja meg ezzel a neutrofil. Az anthrax- vagy pertussistoxin károsítja a fagocitákat. Néhány bakteriális vegyület az immunrendszer antibakteriális peptidjeit támadja meg. Például a *Staphylococcus*ok staphylokináza az emberi szervezet  $\alpha$ -defenzinjeivel képez komplexet, és így semlegesíti azokat. Szintén a *Staphylococcus*okra jellemző a toxikus sokszindrómatoxin termelése. Ez a vegyület szuperantigénnek számít. Kötődik az MHC II molekulákhoz az antigénprezentáló sejtek felszínén, amelyek nagyszámú T-sejtet kötnek meg, azok pedig afiziológián nagy mennyiségű interleukin-2 fehérjét termelnek.

### Bakteriális szekréciós rendszerek

Baktériumok virulenciájának meghatározó tényezői azok az effektor molekulák, amelyeket a patogének célsejtjeikbe juttatnak be, hogy módosítsák működésüket. A baktériumsejteket az eukarióta sejtekkel ellentétben nem egyetlen membrán határolja, hanem változatos felépítésű és vastagságú sejtfal, illetve Gram-negatív baktériumok esetében még egy külső membrán is. A baktériumsejtnek ezeken a rétegeken keresztül nemcsak a virulenciájához szükséges faktorok kijuttatását kell biztosítani, hanem általában a környezetével folytatott anyagforgalmat is. A fehérjék transzportjának céljából különböző szekréciós rendszerek alakultak ki, amelyeket négy főbb típusba sorolunk. Az 1-es típus az ABC-transzporterek rendszerét jelenti, amely esetén az egy

vagy két membránon átívelő csatornán keresztül szállítódnak a fehérjék. A 2-es típus az általános szekréciós út (Sec-útvonal), melynek jellegzetesége, hogy szubsztrátumai már végleges szerkezettel rendelkező fehérjék. A szubsztrátfehérjék *N*-terminális végükön szignálszekvenciát hordoznak, mely Gram-negatív baktériumok esetén a periplazmatikus térben hasítódik le. A 3-as típusú szekréciós rendszerek a bakteriális ostor szerkezetével mutatnak hasonlóságot. A 4-es típusúak a baktériumok konjugációs apparátusával rokonok, és funkciójuk (1) DNS átjuttatása sejtek között sejt-sejt kapcsolattal, (2) effektor molekulák bejuttatása eukarióta célsejtbe, illetve (3) DNS-felvétel vagy -leadás a sejt és a külső közeg között. Az 1-es, 3-as és 4-es típusok esetén a fehérje egy lépésben, hasítatlanul jut ki a külső térbe. A 3-as típusú rendszer csak Gram-negatív baktériumokra jellemző, míg a többi mind a Gram-pozitív, mind a Gram-negatív fajoknál előfordul.

A 2-es típusra jó példa a koleratoxin összeépülése és szekréciója (4. ábra). A toxin citoplazmában szintetizált A- és B-alegységei a belső membránon az egész élővilágban elforduló, általános szekréciós úton (Sec-útvonal) jutnak át, majd a periplazmatikus térben a DsbA fehérje segítségével veszik fel végleges szerkezetüket és állnak össze kész molekulává (AB<sub>5</sub> formáció) [4]. Ezek után a 2-es típusú szekréciós rendszer (Eps) a B<sub>5</sub>-alegységen ismeri fel a szekréciós szignált. A toxin elfoglalja helyét a szekréciós pórusban, majd a külvilágba jut. A modellben a D-fehérje képezi a szekréciós pórust, míg az E-, L-, M-proteinek az extracelluláris szekréció szabályozásában szerepelnek; valószínűleg a külső és belső membránok közötti, foszforiláció vagy ATP-hidrolízis formájában megvalósuló információátadással. A G jelű fehérje domináns részvételével épül fel egy pilushoz hasonló struktúra, amely dugattyúként nyomja ki a toxint a külvilágba a külső membrán szekréciós pórusán keresztül – többszörös relaxáció és összehúzódás ismétlődésével (4. ábra).

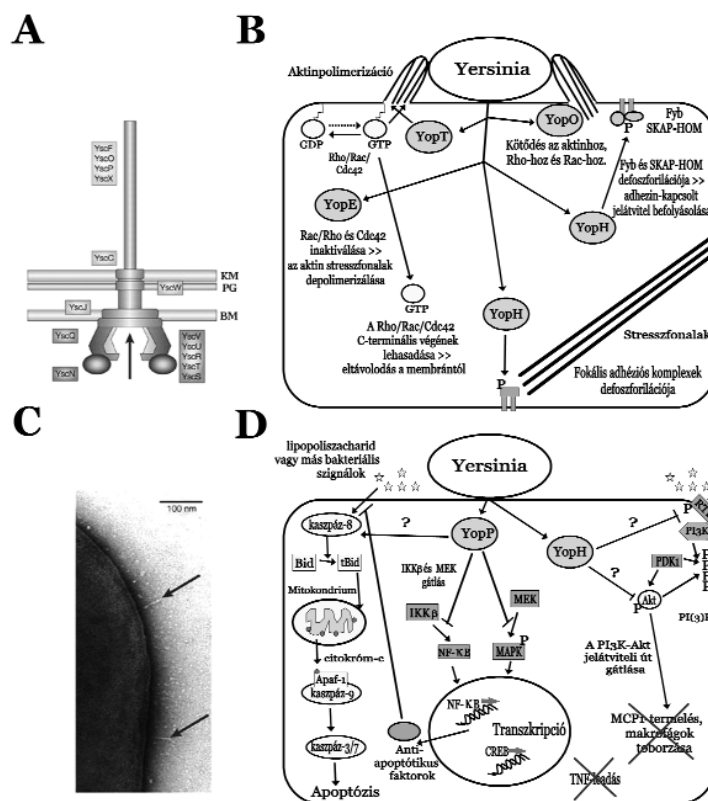
A 3-as típusú, csak Gram-negatív fajoknál előforduló, bonyolult rendszerek [5] a baktériumok citoplazmájából szekretálnak proteinek a belső és külső membránokon keresztül a külső térbe, vagy közvetlenül a gazdasejt sejtplazmájába. A 3-as típusú szekréciós rendszerek fehérjekomplexumokból felépülő, vékony, merev, üreges, túszerű szer-

**4. ábra** (lásd a címlapon) A patogén bakteriális szekréciós rendszerek egyes típusai. Balra fent: A koleratoxin összeépülése és szekréciója az Eps 2-es típusú szekréciós rendszeren keresztül *Vibrio cholerae* baktériumban [4]. A toxin A- és B-alegységei az általános szekréciós útvonalon (Sec-út) jutnak át a belső membrán (BM) a periplazmatikus térbe (PP). Itt szerelődnek össze a végleges, több alegységes toxinná (AB<sub>5</sub>). A számos fehérjéből felépülő, 2-es típusú szekréciós rendszer (Eps) segítségével jutnak át a külső membrán (KM) az extracelluláris térbe (EC). Az A-, B-, N-fehérjék itt részt vesznek ugyan a komplex felépítésében, de nem minden baktériumban szükségesek a sikeres szekrécióhoz. Jobbra lent: A 3-as típusú szekréciós rendszer (TTSS) felépítése [5,6]. A csak a Gram-negatív baktériumokban előforduló TTSS rendszer szerkezeti és funkcionális hasonlóságot mutat a bakteriális flagellummal. EC: extracelluláris tér; KM: külső membrán; PG: peptidoglikán (sejtfal); BM: belső membrán.

kezetek [6], amelyek a bakteriális ostorok bazális testjeihez hasonló struktúrákkal vannak kihorgonyozva sejthártyához (4. ábra). Minthogy ezek a rendszerek képesek mind az ostort felépítő szerkezeti fehérjék, mind a patogenezisben fontos, extracelluláris fehérjék kijuttatásának katalízisére, ezért a 3-as típusú szekréciós rendszerek (TTSS)

és az ostort felépítő szerkezet (Fla-rendszer) működésükben nagyon hasonlóak. Míg a TTSS-ek gyakran mobil plazmidokon (patogenitási szigetek) kódolódnak és baktériumok között horizontális géntranszferrel is átadódhatnak, addig az ostort létrehozó rendszerek legtöbbször kromoszomálisan kódoltak, és csak vertikálisan adódhatnak tovább. A 3-as típusú szekréciós rendszerek számos Gram-negatív baktérium patomechanizmusának részei: *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pestis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bordetella pertussis*, a *Salmonella*, *Shigella* és *Erwinia* genusok fajai.

Ezek közül az egyik legjobban ismert a *Yersinia* baktériumok „injekciós tűje” (5. ábra, C). Ennek a 3-as típusú szekréciós rendszernek a neve Ysc-Yop-rendszer. Az „injekciós tűt” (más néven injekti-szómát) a *Yersinia* szekréciós (Ysc) apparátusa, míg a szekretált effektor fehérjéket a *Yersinia* külső fehérje (Yop) apparátusa jelenti. A *Yersinia* baktériumok felszínén – testhőmérsékleten – a szekréciós



**5. ábra** A *Yersinia* baktériumok Yop-Ysc szekréciós rendszere. (A) Az injekti-szóma felépítése. KM: külső membrán; PG: peptidoglikán; BM: belső membrán. (B) A fagocitózist gátló és a citoskeletonra ható Yop-fehérjék célpontjai. (C) *Yersinia enterocolitica* baktérium felszínéből kinyúló injekti-szómák elektronmikroszkópos képe. (D) A Yop-fehérjék gyulladásgátló hatásainak összefoglalása [7]. RTK: azonosítatlan receptor tirozin kináz; Apaf-1: apoptotikus proteázaktiváló faktor-1.



apparátus számos példányban jelenik meg. Az injekciós tű alapja a bakteriális peptidoglikán sejtfalat és a két membránt is átívelő bazális test, amely egy, a baktérium felszínéből kinyúló, túszerű struktúrában végződik (5. ábra, A). A bazális test legfelsőbb része a fehérjepumpa, melynek egyik legfontosabb alkotórésze az YscN fehérje, egy ATP-áz. A bazális test külső része egy gyűrű alakú szerkezet (belső pórusának átmérője mintegy 5 nm), amely az YscC fehérje polimerizációjából jön létre. Az injektiszóma tujének hossza 60–80 nm, külső átmérője 6–7 nm, míg üregének belső átmérője mindössze 2 nm. Maga a tű a 6 kDa molekulatömegű YscF fehérje polimerizációjából jön létre. Általánosan elfogadott, hogy az injektiszóma elég a Yop végrehajtó fehérjéknek a baktériumból a külvilágba, de nem elegendő az eukarióta célsejtbe történő juttatásához. Ez utóbbi lépéshez szükség van három Yop-transzlokátor fehérje (YopB, YopD, LcrV) jelenlétére, amelyek a célsejt membránjában pórust képezve képesek a Yop-csoport további fehérjéinek, az effektoroknak a bejuttatására [7].

Az eddig megismert 6 effektor közül négy (YopE, YopO, YopT és YopH) a citoszkeleton működésének befolyásolásán keresztül blokkolja a fagocitózist (5. ábra, B). Közülük az első három a Rho-család kis G-fehérjéin hat. A YopT a Rho-család fehérjéit helyezi át a membrántól a citoszólba, ezáltal az aktin-depolimerizációt segíti elő. A YopO szerin/treonin kináz, mely csak aktinhoz kötött formában aktív. Szubsztrátuma lehet maga az aktin, illetve a RhoA és a Rac. A YopH nagyon hatásos tirozin foszfatáz, mely szétrombolja a fokális adhézioakat a létrejöttükben fontos fehérjék defoszforilálásán keresztül (5. ábra, B). Defoszforilálja továbbá makrofágokban az adhézió során egymással kölcsönható és foszforilálódó Fyb (Fyn-kötő protein) és SKAP-HOM fehérjéket; ezúton beavatkozva az adhézió kiváltotta jelátvitelbe. Bármelyik is hiányzik a fagocitózis blokkolásában fontos négy Yop közül, neutrofilek, illetve makrofágok könnyedén bekebelezik a baktériumokat; ami azt jelzi, hogy mind a négy effektor egyaránt fontos az antifagocita hatás kifejtésében. A fagocitózisgátló hatásán túl a YopH gátolja a PI3K/Akt-útvonalat (5. ábra, D). Így csökkenti a monocita kemotaktikus faktor 1 (MCP1) szintézisét, és ezáltal a gyulladós folyamat menetét lassítja. Minthogy a PI3K/Akt-jelátviteli út a limfocitaproliferációt kontrollálja, a YopH lehet felelős a T-sejtek

csökkent citokintermeléséért, valamint a B-sejtekben a B7.2-molekula redukált mértékű sejt felszíni expressziójáért. Eképpen a YopH nemcsak a veleszületett immunrendszer működését gátolja a fagocitózis blokkolásán keresztül, hanem az adaptív immunválaszt is kikapcsolja [7].

Egy másik, még erősebb gyulladásgátló hatással bíró Yop a YopP, mely csökkenti makrofágok TNF-, epi- és endotélsejtek IL-8-termelését (5. ábra, D). Szintén redukálja különböző adhézio molekúla (ICAM 1 és E-szelektin) endotélsejt-felszíni prezentációját, ezáltal késlelteti neutrofilek megérkezését a gyulladás helyszínére. Mindezen hatások az NF- $\kappa$ B transzkripció faktor aktivitásának a gátlásából származnak. Eme hatásain túl a YopP gátolja a JNK, p38, ERK1 és ERK2 MAP kinázokat is. A MAP-kináz-útvonal gátlása megszünteti a gyulladásos folyamat szabályozásában fontos szerepet betöltő másik transzkripció faktor, a CREB foszforilációját. A YopP eme két mechanizmussal több mint 30 makrofággén expresszióját módosítja (5. ábra, D). A YopP ezen felül apoptózist indukál makrofágokban.

## Összefoglalás

A patogén mikroorganizmusok trükkök seregét fejlesztették ki az evolúció során az eukarióta szervezetek ellen. A természetes és a szerzett immunrendszer sejtjeinek működésében temérdek helyen beavatkozva érik el, hogy testünkben megtelepedhessenek. Eme folyamatok kutatása elengedhetetlen a fertőző betegségek minél pontosabb, molekuláris szintű megismeréséhez és az ellenük történő sikeres fellépéshez.

## Irodalomjegyzék

- [1] Laskay, T., van Zandbergen, G., Solbach, W. (2003) Neutrophil granulocytes – Trojan horses for *Leishmania major* and other intracellular microbes? *Trends Microbiol.*, **11**: 210–214.
- [2] Lei, B., DeLeo, F. R., Musser, J. M. (2001) Evasion of human innate and acquired immunity by a bacterial homolog of CD11b that inhibits opsonophagocytosis. *Nature Med.*, **7**: 1298–1305.
- [3] Vazquez-Torres, A., Fang, F. C. (2001) Salmonella evasion of the NADPH phagocyte oxidase. *Microbes Infect.*, **3**: 1313–1320.
- [4] Sandkvist, M. (2001) Biology of type II secretion. *Mol. Microbiol.*, **4**: 271–283.
- [5] Saier, M. H., Jr. (2004) Evolution of bacterial type III protein secretion systems. *Trends Microbiol.*, **12**: 113–115.
- [6] Kymbrough, T. G., Miller, S. I. (2002) Assembly of the type III secretion needle complex of *Salmonella typhimurium*. *Microbes Infect.*, **4**: 75–82.
- [7] Cornelis, G. R. (2002) The *Yersinia* YSC-YOP 'type III' weaponry. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **3**: 742–752.

# A Magyar Biokémia Egyesület 2006. évi vándorgyűlése

(Pécs, 2006. augusztus 30 – szeptember 2.)

## Késői előadás- és poszter-összefoglalók

### E7 – Jelátvitel

#### E7-12 Új típusú *Drosophila* protein foszfatázok és a velük kölcsönható fehérjék vizsgálata

Kókai E.

DE, OEC, Orvosi Vegytani Intézet, Debrecen

A *Drosophila melanogaster* 19 Ser/Thr specifikus protein foszfatáza (PPP) közül csak néhányuk ismerjük a biológiai funkcióját. A molekuláris módszerekkel azonosított új típusú protein foszfatázok szerepe még nem ismert. Ebbe a családba tartozik az általunk vizsgált protein foszfatáz Y (PPY) és protein foszfatáz N (PPN), amelyek kizárólag a *Drosophila* hím egyedek ivarszervében fejeződnek ki. A foszfatázok szerepének megismerése érdekében munkacsoportunk élesztőkéthibrid módszerrel azonosított öt a PPY-nal és egy a PPN-nel kölcsönható fehérjét. Korábban már részletesen bemutattuk a PPY regulátor 1 (PPYR1) fehérjét. Jelen munkánkban a PPY és PPN enzimekkel kölcsönható újabb fehérje, azaz a CG14884 és a CG6167 jelű géntermékek vizsgálatáról szá-

molunk be. A kölcsönhatást mindkét esetben megerősítettük immunprecipitációval és „pull down” módszerrel is. Irodalmi adatok szerint a CG14884 a COP9 szignáloszóma CSN5 nevű alegységét kódolja, fontos szerepet játszik az idegrendszer fejlődésében és az embriók kialakulásában. A CG6167 emlős homológja a protein kináz C (PKC) enzimhez képes kapcsolódni. Munkánk során kimutattuk, hogy mind a két génről átíródó mRNS megtalálható a *Drosophila* heréjében. Megállapítottuk, hogy a CG14884 gén az egyedfejlődés minden stádiumában, a CG6167 gén, pedig a második lárva, a báb és az imágó stádiumokban fejeződik ki. Foszforilált mielin bázisos fehérjeszubsztrát felhasználásával igazoltuk a rekombináns PPN foszfatázaktivitását. Kimutattuk, hogy a rekombináns CG6167 fehérje gátló hatást gyakorol a PPN, a CG14884 fehérje, pedig a PPY enzimaktivitására. A két kölcsönható fehérje tesztiszbén betöltött szerepének tisztázására további kísérleteket tervezünk. (OTKA 038061)

### P – Poszterek

#### P-92 A *Candida albicans* PPZ1 gén expressziója

Ádám Cs.<sup>1</sup>, Dudás G.<sup>1</sup>, Molnár M.<sup>2</sup>, Farkas I.<sup>1</sup>, Dombrádi V.<sup>1</sup>

DE, <sup>1</sup> OEC, Orvosi Vegytani Intézet; <sup>2</sup> TTK Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszék, Debrecen

Irodalmi adatok alapján ismert, hogy a protein foszfatáz Z (PPZ) enzim gombaspécifikus és esszenciális funkciókkal rendelkezik. Korábban már azonosítottuk és klónoztuk a mintegy 2700 bp méretű *Candida albicans* PPZ-t kódoló CaPPZ1 gént. További munkánk során a CaPPZ1 fehérje jellemzését és jelátviteli útvonalakban való szerepét kívántuk tanulmányozni. Ennek érdekében meg kellett határozni a megfelelő cDNS szekvenciáját, és meg kellett valósítani a rekombináns fehérje expresszióját. A CaPPZ1 cDNS izolálása céljából *C. albicans* cDNS-könyvtárát oligonukleotid-primerpárok segítségével, PCR módszerrel szűrtük. Miután kiderült, hogy a legnagyobb termék sem tartalmazza a teljes kódoló régiót, a hiányzó 5' illetve 3' szekvenciaregionokat RACE stratégia segítségével határoztuk meg. A három részleges cDNS-szakasz nukleotidsorrendjéből összeállítható volt a teljes cDNS szekvencia. Később sikerült sokszorozni a teljes hosszúságú, 1918 bp méretű PPZ1 cDNS-t is. Mindkét módszerrel arra az eredményre jutottunk, hogy a CaPPZ1 gémben nincsenek intronok. Ezután pet28a(+), illetve pGEX-4T1 expressziós vektorba klónoztuk a CaPPZ1 gén kódoló régióját. Az *E. coli*-ban termeltetett fehérjék alkalmasak voltak nyúl immunizálásra és CaPPZ1 elleni antitest előállítására, azonban nem rendelkeztek megfelelő enzimaktivitással. Ezért a CaPPZ1 fehérje termeltetését *Pichia* expressziós rendszerben próbáljuk megvalósítani. Ennek során a CaPPZ1 gén kódoló régióját pPIC9K vektorba klónoztuk, *Pichia pastoris*-ba transzformáltuk, majd igazoltuk annak genomba történő beépülését. A transzformánsok vizsgálata jelenleg folyamatban van. (OMFB-00922/2003)

#### P-93 A fagocitáló képességet fokozó dexametazon csökkenti a humán makrofágok felszíni szialiláltságát

Mádi A.<sup>1</sup>, Májai Gy.<sup>2</sup>, Fésüs L.<sup>1,2</sup>

DE, OEC, <sup>1</sup> MTA Apoptózis és Jelátvitel Kutatócsoport; <sup>2</sup> Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet, Debrecen

A szervezetben nagy mennyiségben keletkező apoptotikus granulociták megelőbbi felismerése, fagocitálása és lebontása alapvető fontosságú a gyulladásos folyamatok megelőzésében. A gyulladásellenes glükokortikoidok jelentősen növelik a makrofágok fagocitáló képességét. A glükokortikoidkezelés segíti a fagocitózishoz szükséges citoskeleton átrendeződést; de eddig nem ismert, vajon át is alakítja-e a makrofágok felszínét. A plazmamembránban lévő glikolizált fehérjék fontos szerepet játszanak a sejtek közötti kapcsolatok alakulásában. Munkánk során ezért dexametazon hatására bekövetkező expressziós változásokat vizsgáltunk humán makrofágokban különböző szénhidrátreszekre specifikus lektinek felhasználásával.

Az alkalmazott lektinek közül a 2-6 glikozidos kötésben lévő szialinsavra specifikus *Sambucus nigra* agglutinin (SNA) segítségével kimutattuk, hogy dexametazon hatására eltűnik két szialilált fehérje (36 kDa és 30 kDa) a makrofágok plazmamembránjából, míg a sejteken belül megjelenik egy 44 kDa méretű. Fagocitózis méréseinkben a kezelt makrofágok 28 ± 4,1%-a, míg a kezelt 64 ± 2,2%-a fagocitált apoptotikus neutrofileket. A felszíni szialinsavakat lefedő SNA hatására a kezelt sejtek fagocitózisa 42 ± 3,5%-ra nőtt, míg a kezeltét nem befolyásolta. Eddigi eredményeink szerint a szialinsavas csoportok eltűnése a dexametazonnal kezelt makrofágokról közvetlen szerepet játszhat fagocitáló képességük növelésében. A kimutatott három fehérje tisztítása és azonosítása folyamatban van.

#### P-94 UVB sugárzás hatása a HIF-1 $\alpha$ stabilizációjára keratinocita-sejtkultúrán

Wunderlich L.<sup>1</sup>, Paragh Gy.<sup>2</sup>, Wikonkál N.<sup>2</sup>, Bánhegyi G.<sup>1</sup>, Mandl J.<sup>1</sup>

SE, <sup>1</sup> Orvosi Vegytani, Molekuláris Biológiai és Pathobiokémiai Intézet;

<sup>2</sup> Bőr-, Nemikórtani és Bőronkológiai Klinika

Ismert, hogy a bőrben az ibolyántúli-B (UVB) sugárzás következtében emelkedik a vaszkuláris-endothelialis növekedési faktor (VEGF) és a hemoxigenáz 1 (HO-1) mennyisége. Mindkét fehérje expresszióját szabályozza a hipoxia indukálta faktor 1 (HIF-1) transzkripció fehérje. Kísérleteinkben arra kerestük a választ, hogy UVB sugárzás hatására változik-e az oxigénérzékeny HIF-1 $\alpha$  alegység szintje, és ha igen, akkor ez a folyamat hogyan szabályozódik. Vizsgálatainkat humán eredetű keratinocita-sejtvonalon, HaCaT sejteken végeztük. A HIF-1 $\alpha$  szintjének változásait *Western-blot* technikával, a VEGF és a HO-1 gének kifejeződésének változásait valós idejű PCR technikával mutattuk ki. A kísérletek eredményeként azt kaptuk, hogy 20 mJ/cm<sup>2</sup> UVB besugárzás hatására HIF-1 $\alpha$  szintje először drasztikusan lecsökkent, majd 12 óra múlva az eredeti szint fölé emelkedett. A HIF-1 szintjének emelkedésével – amely a HIF-1 $\alpha$  stabilizációjának következménye – párhuzamosan emelkedik a HIF regulálta VEGF és HO-1 gének expressziója. A HIF-1 $\alpha$  szintjének emelkedése wortmaninnal, a foszfatidil-inozitol 3-kináz (PI3K) specifikus inhibitorával gátlható. Ez arra enged következtetni, hogy a PI3K aktiválta protein kináz B (AKT) szerepet játszhat a HIF-1 $\alpha$  stabilizációjában. Ezt a hipotézist támasztja alá az AKT UVB hatására szerin oldalláncon bekövetkező foszforilációja is. Kísérleti eredményeink fontos lépést jelenthetnek az UV sugárzás következtében létrejövő bőrgyulladás okainak megértésében.

#### A kutatóhelyek rövidítésének jegyzéke

DE: Debreceni Egyetem

OEC: Orvos- és Egészségtudományi Centrum

SE: Semmelweis Egyetem

ÁOK: Általános Orvostudományi Kar

## Egyesületi nagyrendezvény – 9 év után újra

### Beszámoló a Magyar Biokémiai Egyesület 2006. évi vándorgyűléséről

Augusztus 30-án Pécsen, a PTE ÁOK IV. előadótermében vette kezdetét a Magyar Biokémiai Egyesület (MBKE) 2006. évi vándorgyűlése. A megnyitón beszédet mondott Fésüs László akadémikus, az egyesület elnöke, és a fogadó intézmény részéről Lénárd László akadémikus, rektor (1. ábra), majd az egyesület Tankó Béla-díjának átadására került sor, amit ezúttal Friedrich Péter akadémikusnak, az



**1. ábra** A konferencia megnyitója az egyesület vezetősége, a vendéglátó Pécsi Tudományegyetem rektora és a konferencia-szervezők részéről.

MTA SzBK Enzimológiai Intézete idén leköszönt igazgatójának ítélte a kuratórium (lásd a *Biokémia* folyóirat e számának 90. oldalát – a szerk.). A megnyitó két felkért előadással (Sümegei Balázs, Pécs, Poli-ADP-ribosziláció indukálta jelátviteli folyamatok oxidatív stresszben; Sahin-Tóth Miklós, Boston, USA, Az öröklődő pancreatitis molekuláris mechanizmusai) folytatódott, és állófogadással zárult.

Az egyesület legutóbbi vándorgyűlése is éppen Pécsen volt, még 1997-ben. Az azóta eltelt időben a biokémus közösség tagjai nemzetközi konferenciákon (pl. *FEBS 2005 – The Protein World*, Budapest), valamint az egyesület Molekuláris Biológiai Szakosztályának találkozóin és az MTA Biológiai Osztály Biokémiai és Molekuláris Biológiai Munkabizottságának szakmai ülésein találkozhattak egymással. Számosan maradtak a gyűlés után a következő héten ugyancsak városunkban megrendezett konferencia (*47th International Conference on the Bioscience of Lipids*) kedvéért is.

A szervezők koncepciója a legutóbbi vándorgyűlés tapasztalatait is figyelembe véve az volt, hogy próbáljanak minél több fiatalat idecsábítani, ennek érdekében a regisztrációs díjakat alacsony szinten határozták meg. Ehhez a vándorgyűlés támogatói (AP Hungary Kft., Bio-Rad Kft., Bio-Science Kft., Sigma-Aldrich Kft., Soft Flow Hungary Kft.) mellett a PTE ÁOK kari vezetése is hozzájárult azzal, hogy ingyen bocsátotta rendelkezésre a főépület szükséges helyiségeit, berendezéseit. A számítás bevált: az összesen mintegy 250 regisztrált résztvevő jelentős része, ezen belül az 50 előadás előadóinak csaknem fele, illetve a 94 poszter szerzőinek túlnyomó része 35 év alatti volt. Ezek a számok (különösen a legutóbbi vándorgyűlés, illetve a köztes munkabizottsági ülések iránti érdeklődést figyelembe véve) arról is árulkodnak, hogy minden nehézség ellenére a biokémia és molekuláris biológia területén a helyzet perspektivikus, az utánpótlásra sem mennyiségében, sem minőségében nem panaszkodhatunk.

A nyolc szekció (Szerkezeti biológia; DNS-károsodás és oxidatív stressz; Programozott sejthalál; Anyagcsere-betegségek és műszeres analitikai módszerek; A génkifejeződés szabályozása, Jelátvitel; Új gyógyszercélpontok azonosítása; Bioinformatika és rendszerbiológia) átfogta a magyarországi biokémiai és molekuláris biológiai kutatás csaknem teljes spektrumát (2. ábra). Minden szekcióban legalább egy senior kutató mellett több fiatal is bemutatthatta legújabb eredményeit. A hazai kutatóhelyek munkáiról szóló beszámolókat



**2. ábra** Aktív hallgatóság a „Jelátvitel” szekcióban.





3. ábra Élénk szakmai élet a kávészünetben.

külföldön dolgozó magyarok előadásai is színesítették, és kuriózumnak számított egy Magyarországon dolgozó idegen ajkú kolléga előadása. Szakmai megbeszélésekre, vitákra bőven nyílt lehetőség a négynapos rendezvény során, részint az előadásokat követő – rendszerint igen élénk –

rövid megvitatási időszakokban, melyekre a szekcióelnökök mindig lehetőséget teremtettek, még időbeli csúszás árán is, a poszterszekcióban, a szünetekben, az ebédeknél vagy a büfénél (3. ábra), illetve az esti rendezvényeken.

A tudományos programon túlmenően a vándorgyűlés keretében került sor az egyesület közgyűlésére, valamint egy tudománypolitikai fórumra is „Hol és hová tart a magyar tudományos kutatás 2006-ban?” címmel. A vándorgyűlés létrejöttéért végzett munkájáért kiemelt köszönet illeti Buday Lászlót a MBKE titkárát a központi koordinációért, valamint a támogatókkal és a kiállítókkal való kapcsolattartásért, Székács Andrást az egyesületi folyóirat e rendezvénynek szentelt számának összeállításáért és igényes megszerkesztéséért, Keresztesné Ágit a pénzügyek intézéséért, valamint a helyi szervezők részéről ifj. Gallyas Ferencet, Adamikné Andreát és Girán Lászlót.

Berente Zoltán

## Nemzetközi szimpózium a növények veleszületett és szerzett betegség-ellenállóságáról

Az ez év augusztus 31. és szeptember 3. között Budapesten, az MTA Székházának Felolvasótermében rendezett, „*Non-specific and specific innate and acquired plant resistance*” című szimpóziumot szervezője, az MTA idén 125 éves Növényvédelmi Kutatóintézete a 2005-ben elhunyt Klement Zoltán akadémikus emlékének szentelte. A tudományos ülés szekciói a következők voltak: „*Plant Resistance Mechanisms*”, „*Systemic Resistance*”, „*Resistance to Viruses*”, „*Plant Resistance Breeding*”, „*Resistance to Bacteria*”, „*Reactive Oxygen Species and Antioxidants*”, „*Transgenic Approaches in Plant Resistance*”, „*Plant – Fungus Interactions*”. A 40 előadás és a 28 poszter döntő többsége a növény-kórokozó kölcsönhatások molekuláris és biokémiai vonatkozásaival foglalkozott. A szimpóziumon 88 résztvevő, köztük a tudományterület kiemelkedő egyéniségei vettek részt. Chris Lamb, a norwich-i John

Innes Központ igazgatója az általános és szerzett rezisztenciában szerepet játszó jelátviteli folyamatokkal, míg Dierk Scheel, a hallei Leibniz Növénybiokémiai Intézet vezetője a növények kórokozók szembeni, ún. „nem gazdanövény” rezisztenciájával foglalkozott előadásában. Kim Hammond-Kosack (Rothamsted Kutatóközpont, Harpenden, UK) a gabonafélék *Fusarium*-fertőzéssel szembeni rezisztenciájával és a mikotoxinok képződésével kapcsolatos eredményeit ismertette. A jelátviteli és védekezési mechanizmusokat a *Fusarium* fajokkal fertőzött *Arabidopsis thaliana* virágzövetében vizsgálta. A szisztémikus szerzett rezisztenciában fontos szerepet játszó szalicilsavkövető fehérjéről és a metil-szalicilát szerepéről Daniel F. Klessig, a Boyce Thompson Intézet (Ithaca, NY, USA) igazgatója számolt be. Karl-Heinz Kogel, a giesseni Justus Liebig Egyetem professzora ismertette az

Indiában izolált *Piriformospora indica* mikorrhizagomba növekedésserkentő és betegség-ellenállóságot fokozó hatásának mechanizmusát árpanövények esetében. James E. Schoelz (Missouri-i Egyetem, Columbia, MO, USA) elmondta, hogy az általuk előállított *Nicotiana edwardsonii* var. Columbia dohányfaj génforrásként szolgálhat növényi vírusok széles körével szembeni rezisztencia kialakításához más dohányfajokban is. Péter D. Nagy (Kentucky-i Egyetem, Lexington, KY, USA) előadásában a növény-vírus kölcsönhatások és a vírusevolúció összetett molekuláris hátterét mutatta be, és ismertette azokat a mechanizmusokat, amelyekkel a vírusok igyekeznek elkerülni a növényi védekezési reakciókat (vírus RNS rekombináció, a genetikai változatosság megnövelése). Gáborjányi Richard (Veszprémi Egyetem, Georgikon Kar, Keszthely) a rezisztenciaforrásként szolgálható vad *Solanum*-fajok hiperszenzitív és extrém típusú rezisztenciáját mutatta be a burgonyát károsító vírusokkal szemben. A rezisztencia-nemesítési szekcióban négy előadás hangzott el a molekuláris rezisztenciamarkerek (QTL) feltérképezéséről *Fusarium*-búza, szilvahimlővírus-kajsziabarack, lisztharmat-búza, valamint *Botrytis cinerea* – *Solanum habrochaites* kórokozó-növénykapcsolatok esetében.

Külön jelentőséget kapott a bakteriológiai szekció, amelyben a tudományterület több vezető alakja is megemlékezett a világszerte elismert növénybakteriológus, Klement Zoltán munkásságáról (*lásd Király Zoltán és Kólmives Tamás akadémikusok megemlékező sorait*). Alan Collmer (Cornell Egyetem, Ithaca, NY, USA) a *Pseudomonas syringae* növénykórokozó baktérium III. típusú szekréciós rendszerével kapcsolatos litikus transzglikozilázok szerepéről beszélt az általános rezisztencia gátlásában, míg Gregory B. Martin (Boyce Thompson Intézet, Ithaca, NY, USA) a *Pseudomonas* baktériumok által kiválasztott avirulenciagén-termékek (AvrPto és AvrPtoB) szerepét vizsgálta paradicsomnövények fogékonyságában. Kondorosi Éva (CNRS Növénytudományi Intézete, Gif-sur-Yvette, Franciaország) a *Rhizobium*-lucerna-szimbiózis veleszületett immunitásának új kísérleti eredményeit mutatta be. Az MTA Növényvédelmi Kutatóintézetéből Klement Zoltán két tanítványa, Ott G. Péter és Bozsó Zoltán számoltak be a növénykórokozó baktériumokkal szembeni álta-

lános növényi védekezés kutatásának legújabb eredményeiről.

A reaktív oxigének és az antioxidánsok szerepével foglalkozó szekcióban C. Jacyn Baker (USDA, Beltsville, MD, USA) a növényi sejtekben fertőzések hatására bekövetkező hidrogén-peroxid-felhalmozódás jelentőségét mutatta be. Az MTA Növényvédelmi Kutatóintézete két munkatársának, Király Zoltánnak és Barna Balázsnak az előadása az oxidációs stressz és az antioxidáns anyagok a specifikus és nem specifikus növényi betegség-ellenállóságban, illetve a reaktív oxigének és a nitrogén-monoxid (NO) abiotróf és nekrotrof kórokozókval szembeni ellenállóságban betöltött szerepével foglalkozott.

Roger Beachy, a Donald Danforth Növénytudományi Központ (St. Louis, MO, USA) igazgatója ismertette vírusból származó génekkel transzformált növények fokozott vírus-ellenállóságával kapcsolatos eredményeit. Burgyán József (Mezőgazdasági Biotechnológiai Központ, Gödöllő) a vírusindukált géncsendesítéssel és annak visszahozásával kapcsolatos eredményeiről tartott előadást. Dietmar J. Stahl (Planta GmbH, Einbeck, Németország) elmondta, hogy munkatársaival a növényi rezisztenciagének működéséhez szükséges új, kórokozó-indukált promótereket tervezett, illetve szintetizált. Ezeket cukorrépanövényekbe beépítve a *Cercospora beticola* gombával szemben a rezisztencia növekedését figyelték meg. Ilan Chet, a Weizmann Intézet (Rehovot, Israel) igazgatója a *Trichoderma* gombákkal történő biológiai védekezés mechanizmusait és lehetőségeit ismertette, míg Hornok László (Agrártudományi Egyetem, Gödöllő) a növénypatogén *Gibberella fujikuroi* (anamorf: *Fusarium*) gombák szexuális és vegetatív úton történő szaporodását, kompatibilitási/incompatibilitási viszonyaik molekuláris hátterét mutatta be.

A szimpóziium a Parlament épületének valamint az MTA Mezőgazdasági Kutatóintézetének (Martonvásár) meglátogatásával és az azt követő nagy sikerű borkóstolóval zárult. A rendezvény – amelynek fő támogatói az MTA, a Summit-Agro Hungaria Kft. és a Pioneer Hi-Bred Magyarország Zrt. voltak – rövid ismertetése és részletes programja megtalálható az MTA Növényvédelmi Kutatóintézete honlapján ([http://www.nki.hu/pr\\_symposium2006/index.html](http://www.nki.hu/pr_symposium2006/index.html)).

Barna Balázs

## KLEMENT ZOLTÁN

(1926–2005)

A „*Non-specific and specific innate and acquired plant resistance*” szimpóziумot a 2005. október 19-én tragikus hirtelenséggel elhunyt Klement Zoltán, az MTA Növényvédelmi Kutatóintézetének kutatóprofesszora emlékének szentelték. A rendezvényen számos tanítványa ismertette vele közös eredményeit.

Klement Zoltán 1949-ben, fiatal pályakezdőként kezdte meg munkásságát az MTA Növényvédelmi Kutatóintézetében, s az elkövetkező 56 év során az intézmény egyazon laboratóriumában dolgozott. Az intézeten belül megindította a bakteriológiai kutatásokat, majd létrehozta és évtizedeken keresztül vezette a Bakteriológiai Kutatócsoportot. Tudományos munkásságának korai kiemelkedő eredménye volt, hogy 1964-ben kimutatta a baktériumfertőzött rezisztens növényekben mutatózó, ún. hiperszenzitív reakció (HR) létét (Klement, Z., Farkas, G. L. and Lovrekovich, L. (1964) *Phytopathology*, 54: 474–477).

A legutóbbi időkig végzett vizsgálataiban munkatársaival a növények bakteriális fertőzésekkel szemben mutatott új típusú, nem specifikus, azaz általános ellenálló képességének növénykörtani és molekuláris leírásán dolgozott. Alapkutatási tevékenysége mellett kiemelt érdeklődést mutatott a növényi betegségekkel kapcsolatos gyakorlati kérdések iránt, különös tekintettel a *Pseudomonas syringae* szerepére a hungarikum növényfajnak számító kajszi gutatütés-betegségben. Különböző hazai egyetemek doktori iskoláinak volt ki-



emelkedő oktatója, s felelősséggel vezette egy évtizeden keresztül a mezőgazdaság- és kertészettudományi doktori iskolák akkreditációját felügyelő bizottságot.

Bár teljes szakmai pályafutását egyetlen intézmény, az MTA Növényvédelmi Kutatóintézet munkatársaként járta be, szakmai hatása a növénykörtan széles körű, nemzetközi területén megmutatkozott. A nemzetközi tudományos közvélemény a mintegy 150 szakmai közleménye közül számosat a tudományterületre nézve alapvető fontos-

ságúnak ítélte, s az 1990-ben megjelent növénykörtani kézikönyve (*Plant Pathogenic Bacteria*), melynek társszerkesztője volt, nemzetközi viszonylatban is jelentős figyelmet és elismerést kapott. Hazai elismertségét mutatja magyar tudományos akadémiai tagsága (1985), Akadémiai- (1973) és Széchenyi-díja (1994), valamint magyar egyetemek *honoris causa* doktori címei.

Odaadó szakmai munkássága mellett életszeretete és sugárzó lelkesedése is kiemelkedő

személyiséggé tette, s emellett elismert festő és kertész is volt. Szerető gonddal és hozzáértéssel ápolta kis patakkal és tóval díszes kertjét, melyet vendégeinek is büszke örömmel mutatott. Vendégszerető házigazdaként örömmel fogadta barátait otthonában, s a beszélgetések során intellektusával és humorával bárkit felvidített. Halála után sokan gyászolják egy igaz jó barát és munkatárs elvesztését.

*Király Zoltán és Kőmíves Tamás*



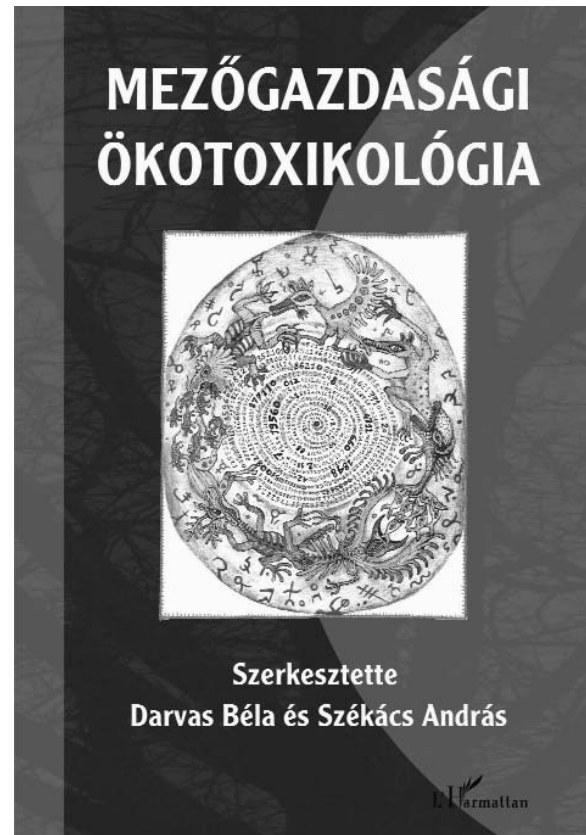
# A csupasz majom Janus-arcú teremtményei

**Darvas Béla, Székács András (szerk.):  
MEZŐGAZDASÁGI  
ÖKOTOXIKOLÓGIA**

(Könyvismertetés)

L'Harmattan, Budapest, 2006

A vegyipar jóvoltából mintegy százezer szintetikus vegyülettel élünk együtt, és számuk a WHO szerint évente 1-2 ezerrel nő. Többek között ezt a nyugtalanító tényt olvashatjuk a *Mezőgazdasági ökotoxikológia* című, frissen megjelent könyv bevezető fejezetében. A tankönyvnek is szánt kézikönyv témája, az ökotoxikológia – legrövidebb meghatározásában – a vegyületek környezetünkben való eloszlásával és hatásaival foglalkozik. A könyv egyes fejezeit egy huszonhét szerzőből [1] (köztük 12 az MTA doktora) álló szakmai közösség írta, a vállalkozás tehát nagy kihívás elé állította a kötet szerkesztőit, Darvas Bélát és Székács Andrást. Ezt csak fokozta az a körülmény, hogy az ökotoxikológiát mint önálló, az ökológia és a toxikológia között elhelyezkedő tudományágat tárgyaló kézikönyv még nem született magyar nyelven. Közvetlen előzményének tekinthető Darvas Béla *Virágot Oikosnak* címen megjelent, a szélesebb közvéleménynek (is) szánt könyve [2]. A kézikönyv interdiszciplinaritás jellegét hangsúlyozzák Papp László akadémikus – a könyv fülszövegén található – méltató szavai is: „*A hazai olvasó első alkalommal vehet kézbe mezőgazdasági ökotoxikológia kézikönyvet, amely egyetemi tankönyvként is alkalmazható. Világviszonylatban is egyedülálló, amit a könyv ismeretanyaga kínál, s nem véletlenül. A környezettudományoknak ez az új ága korunk egyik gyorsan bővülő alkalmazott környezet-egészségügyi ismereteit foglalja össze. Művelői sokféle tudományirányból – mezőgazdasági, biológusi, orvosi – érkeznek, és a találkozás éppen ezen a területen szinte törvényszerű. Konfliktusos tudományalkalmazásról van szó, hiszen ez a diszciplína termékeink másodlagos hatásait tárja fel, s a következtetések sokféle gazdasági érdeket sérthetnek. ... A növényvédő szerek krónikus toxicitásának (mutagenitás, karcinogenitás, teratogenitás, hormon- és immunmoduláns hatások) összefoglalása jelentős közismereti hiányosságot pótol, s minden bizonnyal a könyv legjelentősebb hatású részévé válik majd.*”



A vaskos kötet témáját hatásos és tömör problémafelvetés vezeti be, ezt követi a 39 fejezetre tagolt ismeretanyag, végül a mellékletben helyet kapó 4 zárófejezet. Öt nagyobb részre bontva tárul fel az olvasó előtt ennek az új, integráló tudományágnak az ismeretanyaga. Minden fejezet végén szakirodalmi lista található.

Elsőként a növény- és faanyagvédő szerek, természetnövelő anyagok, valamint állatgyógyászati készítmények felhasználásáról és engedélyezéséről olvashatunk hét fejezetben, az előbbiről a hazai gyakorlat szemszögéből, az utóbbiról az Európai Unió egységes engedélyezési rendszerének bemutatásával együtt. E tematikus egység áttekinti a növényvédőszer-hulladékok kezelésére engedélyezett eljárásokat: az égetőkben történő megsemmisítést vagy a hulladéklerakókban való „ártalmatlanítást”, s részletesen kitér mindkét módszer kapcsán a környezetvédelmi szempontokra és aggályokra.

Külön rész, négy tematikus fejezet foglalkozik a növényvédő szerek felosztásával és hatásmecha-

nizmusával, kitérve a hatóanyagokkal kapcsolatos ökotoxikokinetikai és -dinamikai, környezeti kémiai és kemodinamikai vonatkozásokra. Ez a – mondhatjuk talán – legklasszikusabb rész is számos meglepetést tartogat a magyar olvasónak, hiszen például az állatirtó szerek bemutatásánál az általánosan ismert, általános idegmérgek mellett hangsúlyosan és részletezve a kedvező(bb) környezet-egészségügyi, illetve specifikus támadáspontú hatóanyagok tárgyalása is szerepel. Itt jegyzem meg, hogy a könyv rendkívül konzekvens és pontos a hatóanyagnevek és készítmények írásmódjában. A magyar szakirodalomban gyakran preferált, „magyaros” átírás helyett a hatóanyagok helyesírása a hatóanyagnév szabadalmaztatott formáját követi.

A harmadik, összesen 24 fejezetet felölelő központi rész a növényvédő szerek ökotoxikológiai értékelését tárgyalja, akut és krónikus toxicitás, valamint környezetkémiai és környezetbiológiai paraméterek alapján. Ez a – minden bizonnyal legnagyobb érdeklődésre számot tartó – egység minden esetben a szükséges elméleti alapozás után tér rá az alkalmazott ismeretekre. A krónikus toxicitás 14 fejezete szinte kötelező olvasmányként ajánlható minden, toxikológiával, illetve növényvédő szerekkel foglalkozó szakembernek és leendő szakembernek. Nem fogunk csalódní, ha a mutagenitás, karcinogenitás, embriotoxicitás, teratogenitás, immuntotoxicitás, neurotoxicitás, illetve hormonálisan aktív anyagok témakörében szeretnénk akár alap-, akár az egyes növényvédő szerekkel kapcsolatos specifikus ismereteket szerezni. Talán nem túlzás azt állítani, hogy a hazai orvos-, gyógyszerész- és felsőfokú egészségügyi képzésből szinte teljesen hiányzik ennek az ismeretanyagnak céltotán a növényvédő szerekre (és általában a biocidiek többségére) vonatkozó része, melyet a könyv hatékonyan pótolhat, csakúgy, mint az agrár-felsőoktatásban a rendszerezett elméleti alapozás ebbéli hiányosságait.

A mutagenitásról és daganatkeltő hatásról Szabad János által írt egy-egy fejezet, Tompa Anna a kémiai karcinogenezist áttekintő fejezete és a Fónagy Adrien jegyezte gerinces fejlődéstani fejezet a biológiát oktató tudományegyetemek figyelmébe ajánlható jó szívvel. A biokémikus számára különösen érdekes és alapvető Szabad János mutagenézissel foglalkozó fejezete, mely áttekinti a spontán és

az indukált mutációk mechanizmusait és következményeit, a kromoszómamutációk lehetséges okait, valamint a DNS-hibajavító mechanizmusokat. S minthogy részletesen megismerhetjük a nukleobázisok tautomer átrendeződéseiből, a bázispáraddíciók, -deléciók és -cserék folytán fellépő, illetve a kereteltolódásos mutációk folyamatainak lépéseit, még érthetőbb – és csodálatosabb – a DNS-hibák visszaállító vagy szuppresszor, valamint fotoaktivációs, kivágásos és rekombinációs javítási mechanizmusait is hasonló mélységben megismerni. A könyv egészére a számos, eltérő stílusú szerző ellenére jellemző érthető, olvasmányos stílus itt különösen jól megmutatkozik. A gördülékeny, logikus és a megértést segítő ábrákkal gazdagon illusztrált fejezet(ek)ből többek közt megtudhatjuk, hogy minden mutagén anyagra indokolt egyben rákkeltő hatásúként is tekintenünk, mivel az eddig megvizsgált több száz mutagén mindegyike képes daganatok képződését indukálni, amennyiben eljut a célsejtig. Ez a megközelítés és érvelés különösen a környezet-egészségügy, és a biocidengedélyeztetés felelős döntéshozói számára lehet megfontolásra érdemes.

A továbbiakban külön fejezetek térnek ki a növényvédő szerek okozta talaj- és vízszennyezésekre, élelmiszer-szennyezésekre, s az igényes áttekintést dicséri, hogy a különféle növényvédőszer-hatóanyagok értékelésén túl önálló fejezet foglalkozik a peszticidkészítmények leggyakoribb veszélyes szennyeződéseinek (pl. dibenzo-dioxinok, dibenzo-furánok, nitrózamin-származékok, etilén-tio-karbamid), valamint a hordozó és formázó anyagok (pl. benzol, xilol, ciklohexanol) toxikus hatásaival. Emellett a környezetkémiai és -biológiai paramétereket áttekintő egység elengedhetetlen része természetesen a környezeti fennmaradóképességéből (perzisztenciából) adódó bioakkumulációs és biomagnifikációs folyamatok áttekintését nyújtó fejezet is.

Egy rövidebb, három fejezetet tartalmazó résszel folytatódik a könyv, amelyben a genetikailag módosított (GM) növények ökotoxikológiai értékelése, valamint az ilyen szervezetekből készült élelmiszerek táplálkozástani hatásai kerülnek górcső alá, újszerű megközelítésben. E tematikus egységből a biokémikus olvasó számára különösen érdekes a mezőgazdasági alkalmazású transzgenetik, s az ezekből származó transzgenikus baktériumok és

növények áttekintése, valamint a GM növények élelmiszer-biztonsági vonatkozásait taglaló fejezet.

Az utolsó, ötödik rész a környezetbarát természetési stratégiákról szól, és összefoglalja az iparszerű és a fenntartható termelési rendszerek sajátosságait. A mellékletben található négy fejezet közül egy az ökotoxikológiai vonatkozású szervezeteket, adatbázisokat gyűjtötte össze az internetes tájékozádat szem előtt tartva, és rendkívül praktikus. Ezt követi a kézikönyv saját adatbázisaként is felfogható, többoldalas táblázat a Magyarországon 1998 és 2000 között engedélyezett, ökotoxikológiai kifizogásolható növényvédő szerekről. Következik az önállóan is értékes, nagyon jól sikerült glosszárium és idegen szavak jegyzéke. A szerkesztők a jelentőségének megfelelően kezelték a kézikönyvnek ezt a pontját is, és ennek gyümölcseként ezt a fontos tudományágat magyar nyelven elsőként bemutató kézikönyv megbízható meghatározásokkal igazítja el az olvasót az új diszciplína alapfogalmai közt.

A *Mezőgazdasági ökotoxikológia* hiánypótló mű. Rendkívül örömteli a megjelenése, hiszen új szint, új tudást, új szemléletet, naprakész ismereteket hoz(hat) a hazai szakemberképzésbe – amely remélhetőleg él is ezzel a lehetőséggel. Tankönyv-

ként való alkalmazását és a tanulás segítését szolgálja az egyes részek előtt szereplő részletesebb tartalomjegyzék is. A könyvet – az ökotoxikológia interdiszciplináris jellegének megfelelően – a felsőfokú oktatás több tudományterülete is befogadhatja tankönyvként. Ezek közé tartozik az agrár-felsőoktatás, az orvos- és gyógyszerészképzés, illetve minden olyan szak és szakirány, amelynek oktatásában környezet-egészségügyi, toxikológiai vagy ökológiai tanszékek vesznek részt. Emellett a fenti területeken dolgozó, kutató valamennyi szakember figyelmébe ajánlható kézikönyvként, forrásmunkaként, és az érdeklődő laikusok is hasznos, rendszerezett ismereteket szerezhetnek nemcsak a DDT-ről, hanem a csupasz majom egyéb efféle Janus-arcú teremtményeiről is.

### Irodalomjegyzék

- [1] A kötet szerzői Anton, A., Bakonyi, G., Bardócz, Zs., Bernáth, S., Csóti, A., Csupor, K., Darvas, B., Dési, I., Druga, A., Fónagy, A., Instítóris, L., Julesz, J., Kassai, T., Lauber, É., Lövei, G., Némethné, Konda, L., Németh, T., Ocskó, Z., Papp, Z., Polgár, A. L., Pusztai, Á., Schmera, D., Szabad, J., Szarvas, F., Székács, A., Szemere, Gy., Szerjopulosz, K., Takács-Sánta, A., Tompa, A. (<http://www.harmattan.hu>)
- [2] Darvas, B. (2000) Virágot Oikosnak. Kísértések kémiai és genetikai biztonságunk ürügyén. L'Harmattan, Budapest

Zöldi Viktor

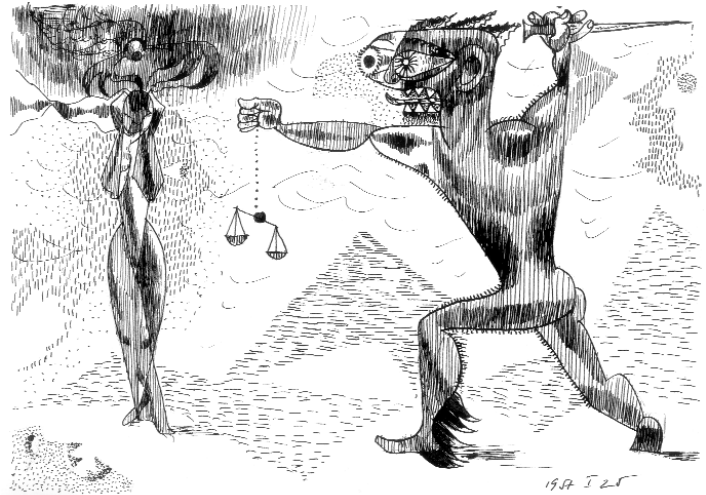
**Lossonczy Tamás** 1904-ben született Budapesten. 1926-ban végzett a Képzőművészeti Főiskolán, ahol kezdetben Bosznay Istvánnál tanult, majd – a mind festői, mind oktatói felfogásában liberálisabb, kísérletezőbb – Vaszary János tanítványa lett. Tanulmányai befejeztével 1926 és 1937 között több alkalommal Párizsba, valamint Hollandiába utazik. Korán kialakítja egyéni, nonfiguratív stílusát, s festmények mellett celluloidplasztikákat is készít. 1929 és 1931 között belsőépítészeti tanul az Iparművészeti Főiskolán, de pályaváltási kísérletéből – Kállai Ernő biztatására – visszatér a festészethez, s 1941-ben műterem-kiállításon mutatkozik újra be, majd 1944-ben szerepel a Kállai szervezte „Új romantika” kiállításon. A Szocialista Képzőművészet Csoportja tagjaként (ahova 1934-ben lép be), illetve szentendrei tartozkodása révén a kor vezető avantgard alkotóival kerül kapcsolatba, egyebek között a szintén Szentendrén dolgozó Vajda Lajossal. Az Európai Iskola, majd az abból kivált Elvont Művészek Csoportja tagjaként 1945-től számos egyéni és csoportkiállításon mutatja be alkotásait. 1948 után a művészetpolitikai rezsim háttérbe szorítja, 1954-ben a Magyar Képzőművészek Szövetségéből is kizárják. Hosszú művészi válságot és a nyilvánosságtól elzárt alkotói időszakot követően 1971-től ismét kiállíthat, gyűjteményes kiállítását 1978-ban mutatja be a Műcsarnokban, s azóta festményeit rendszeresen láthatja a nagyközönség itthon és külföldön. Hazai munkásságán túlmenően 1997-ben nemzetközi felkérésre megtervezi a római „Magliana” metróállomás mozaikdíszítését. Fontosabb hazai kitüntetései, díjai: a Széchenyi Művészeti Akadémia alapító tagja (1992), Kossuth-díj (1994).

Az 1956-os forradalom ötvenedik évfordulójára adta ki a forradalom leverése után készített 17 tollrajzát, amelyekben a nemzet szabadság iránti, vérbe fojtott erőfeszítésének állított felháborodott és gyászoló emléket, s amelyeket évtizedeken át rejtegetni kényszerült. A képek keletkezéséről így ír: *„Könny és düh! ... Művészetem 1949 és 1956 között kétségbeesett önmeghasonulás periódusa volt. Ezek a rajzok mint víziók az elsők közül valók, melyek lerázták magukról a szellemi bilincset.”* Litván György a tollrajzokat tartalmazó faksimile kiadású mappához írott ajánlásában így fogalmaz: *„A szovjet túlerő 1956. november 4-én eltiporta a forradalmat, és meggátolta, hogy a magyar demokrácia már akkor, ötven évvel ezelőtt megszülethessen. Ehelyett kegyetlen megtorlás következett, amely a forradalomnak még az emlékét is ki akarta irtani. Akik írásban vagy képen igyekeztek megörökíteni a forradalom eseményeit, légkörét, kénytelenek voltak alkotásaikat évtizedeken át rejtegetni. Közéjük tartozott Lossonczy Tamás is, aki a feledhetetlen napok emlékét óriási kifejezőerejű rajzokban idézte fel. Méltó kiadásuk most kerül a nyilvánosság elé.”*

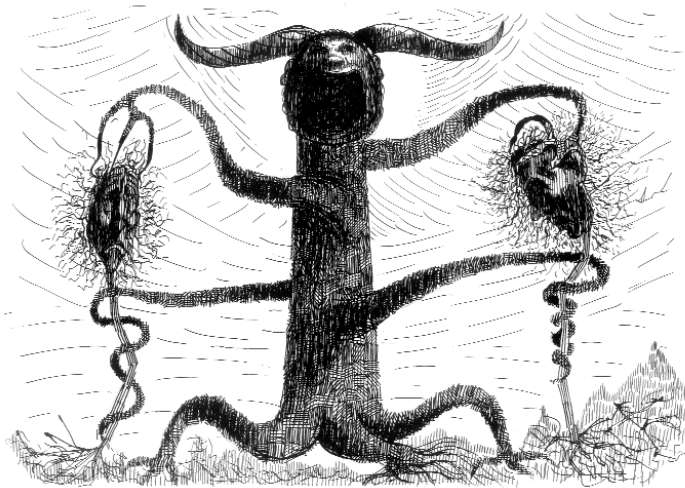




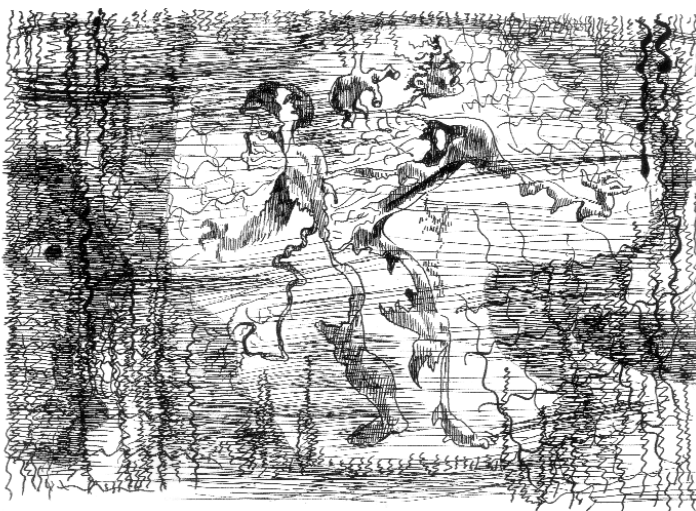
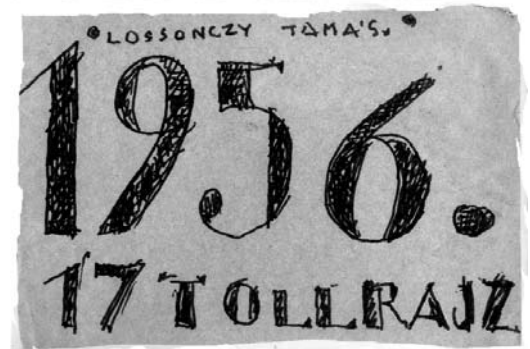
Lossonczy Tamás, 1956. (G3-3) (1956–1957), tollrajz



Lossonczy Tamás, 1956. (G3-5) (1957), tollrajz



Lossonczy Tamás, 1956. (G3-1) (1956–1957), tollrajz



Lossonczy Tamás, 1956. (G3-8) (1956–1957), tollrajz



Lossonczy Tamás, 1956. (G3-9) (1956–1957), tollrajz

## Sigma-díj fiatal kutatóknak

*Három kitüntetett a 2006-os évben.*

Az idei Sigma-díjak ünnepélyes átadására 2006. május 26-án került sor a Sigma-Aldrich Kft. központi irodájában. Az immár hagyományossá vált díjat nem kell részletesen bemutatni a hazai biokémikus közösségnek, már csak azért sem, mert pályázati felhívása minden évben megjelenik a *Biokémia* hasábjain. Az évente kiadott kitüntetést a Sigma-Aldrich Kft., a Sigma-Aldrich Nemzetközi Részvénytársaság magyarországi leányvállalata 1997-ben, alapításának ötödik évfordulója alkalmából hozta létre olyan 35 év alatti, Magyarországon vagy ideiglenesen külföldön ösztöndíjasként dolgozó magyar kutatók részére, akik elsőszerzős közleményeikben Sigma, Aldrich, Fluka, Supelco, Riedel-de-Haën, RBI vagy Genosys termékekre hivatkoztak.

A hagyományokhoz híven idén is családias hangulatú ünnepség keretében kerültek átadásra a Sigma-díjak. A nyerteseknek a díjakat dr. Gráf Márta, a Sigma-Aldrich Kft. ügyvezető igazgatója adta át. Melegen gratulált a fiatal kutatóknak a mai feszített versenyben elért eredményeikhez, és reményét fejezte ki, hogy sok más korábbi nyerteshez hasonlóan az ő neveiket is hamarosan elismert hazai és nemzetközi fórumokon láthatjuk viszont. A 2006-os év I. helyezését Gyurcsányi E. Róbert (Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem) kapta, a



II. helyezést Hegyi Árpád (Szent István Egyetem, Gödöllő), a III. helyezést pedig Gajdné Schrantz Krisztina (Szegedi Egyetem, TTK).

A nyertesek közül az I. és II. helyezettek rövid összefoglalóban ismertették tudományos munkájuk lényegét. Sajnos a harmadik helyezett nem tudott személyesen megjelenni a díjátadás időpontjában. Gyurcsányi E. Róbert egyetemi docens a biomolekuláris felismerés analitikai vonatkozásairól, valamint a a bioanalitikai módszerfejlesztés élvonalában, a bioszenzor-fejlesztésben elért eredményeiről tartott izgalmas előadást. Hegyi Árpád PhD-hallgató, a Szent István Egyetem Mezőgazdaság- és Környezettudományi Karán a Halgazdálkodási Tanszék tanszéki mérnöke a halak hosszú távú stresszhatásvizsgálata, illetve invazív halfajok vizsgálata témakörökben végzett vizsgálatairól számolt be. A meghívottak mellett a Sigma-Aldrich Kft. munkatársai is nagy érdeklődéssel hallgatták az előadásokat, ezzel kis betekintést kapva a több ezer termék közül néhánynak felhasználási lehetőségeibe. A rendezvényt – mint mindig – élénk társalgás és szakmai beszélgetés zárta.

*Matus Ilona*



*A 2006. évi Sigma-díj átadása az I. helyezett Gyurcsányi E. Róbertnek (balra) és a II. helyezett Hegyi Árpádnak (jobbra). A díjakat átadta Gráf Márta, a Sigma-Aldrich Kft. ügyvezető igazgatója.*





## ÁLLÁSHIRDETÉS

### A Pannon Egyetem (Veszprém) Interdiszciplináris Műszaki és Természettudományok Doktori Iskolája

várja a molekuláris biológia, sejtbiológia vagy biotechnológia területén jártassággal rendelkező **doktoranduszok** jelentkezését az alábbi témákban:

- mesterséges fehérjereceptorok létrehozása irányított evolúcióval,
  - funkcionális nanorészecskék előállítása,
- biokatalizátorok és fermentációs technológiák fejlesztése.

Jelentkezés önéletrajzzal és publikációs listával

Dr. Vonderviszt Ferenc doktoriiskola-vezetőnél

(E-mail: von007@almos.vein.hu) 2007. május 15-ig.



# SZKARABEUSZ

Szkarabeusz Környezetvédelmi és Kereskedelmi Kft.; Pécs, Nagy Imre u.148.  
Vegyszerbolt, raktár: Pécs, Verseny u.17. Tel.: 72/532-828, Fax.: 72/532-829  
skarab@axelero.hu • www.szkarabeusz.hu

## SERVA

Electrophoresis

### Fine Biochemicals

- Gyógyszerkönyvi minőségű anyagok: antibiotikumok, aminosavak,
- Antibiotikumok: Cerulenin, Geldanancin, Nigericin, Rapamycin, Trichostatin A, Vancomycin
- Elektronmikroszkópia: SPURR Embedding Kit
- Fehérjekémia: 50 különböző Proteáz inhibitor, inhibitor mixek
- Jelátvitel: 6 új Protein kináz

### Electrophoresis

- SERVALYTE Blank PRECOTES
- NetFix technológia; PreNets gél
- SDS PreNets blotting kit
- dialízishez: DiaEx Midi Kit
- Protein Concentration Kit
- Festékek
- Fehérje: Standardok, Proteome Markers
- Nukleinsav elektroforézis, Native PreNets
- Submarine Electrophoresis
- Software: Digital Image Analysis System, Cell explorer

### Life Sciences

- DNase, RNase mentes reagensek, vegyszerek
- Nukleotidok és keverékek
- Protoplaszt fúzió: Funculase

### Collagenase

- Collagenase NB szövettani felhasználásra

### Ion exchange media

- Serdolit, DOWEX, Servacel

### Enzimek/koenzimek/inhibitorok

## Panreac

Panreac Química S.A.

### Finomvegyszerek, reagensek

- *Műszeres analízishez szükséges termékek*  
HPLC oldószerek: GG, isokratikus, prep.  
Ion-pár reagensek, oldószerek peszticid szermaradvány analízishez  
Spektroszkópiás oldószerek (UV, IR)  
GC standardok
- *Vízmentes, szárított oldószerek*
- *Deuterizált anyagok NMR analízishez*
- *Nyomelem-analízishez reagensek*  
Analpur (szennyezőanyag csak ppb tart.)  
Hiperpur (szenny.a. **kevesebb**, mint 1 ppb)  
Hiperpurplus (szenny.a. **kevesebb**, mint 100 ppt)  
Alacsony Hg-tartalmú reagensek  
AAS standardok, ICP standardok
- Nagytisztaságú oldószerek: n-Hexán, Acetonitril, Aceton, Diklórmetán, Metilalkohol stb.
- Nagytisztaságú savak, reagensek: HCl, HNO<sub>3</sub>

### CULTIMED Mikrobiológiai termékek

### CODEX: Gyógyszerkönyvi minőségű alapanyagok

**ADITIO:** Élelmiszer-ipari minőségű alapanyagok  
(antioxidánsok, stabilizátorok, pH-szabályozók, ásványi sók stb.)



# One Stop



For All Your Cell Culture Needs



bioprocess containers • media • buffers • reagents • serum-free media • FBS alternatives • sera

 **HyClone**<sup>®</sup>

**kvalitex**

Tudományos, Technológiai, Kereskedelmi Kft. • Scientific, Technological, Trading Ltd.

H-1136 Budapest, Pannónia u. 7. Tel.: (36-1) 340-4700 Tel./fax: (36-1) 339-8274 E-mail: [info@kvalitex.hu](mailto:info@kvalitex.hu)