A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA

BIOLÓGIAI TUDOMÁNYOK OSZTÁLYÁNAK

KÖZLEMÉNYEI

SZERKESZTI
STRAUB F. BRUNÓ

VIII. KÖTET 1. SZÁM



AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST
1965

BIOL. OSZT. KÖZL.

A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA
BIOLÓGIAI TUDOMÁNYOK OSZTÁLYÁNAK
KÖZLEMÉNYEI

A SZERKESZTŐ BIZOTTSÁG TAGJAI

Dr. DUDICH ENDRE, Dr. GYÖRFFY BARNA, Dr. SOÓ REZSŐ,
Dr. SZENTÁGOTHAI JÁNOS, Dr. TÖRŐ IMRE, Dr. ZÓLYOMI BÁLINT

SZERKESZTI
STRAUB F. BRUNÓ

TECHNIKAI SZERKESZTŐ
DÉZSI LÁSZLÓ

SZERKESZTŐSÉG: MTA BIOLÓGIAI OSZTÁLYA BUDAPEST V., NÁDOR U. 7.

KIADÓHIVATAL: BUDAPEST V., ALKOTMÁNY UTCA 21.

A Magyar Tudományos Akadémia Biológiai Osztályának Közleményei változó terjedelmű füzetekben jelennek meg. Négy füzet alkot egy kötetet. Évenként általában egy kötet jelenik meg.

Az MTA Biológiai Osztályának Közleményei részére kéziratok a következő címre küldendők:

Budapest V., Nádor u. 7., Dézsi László technikai szerkesztő.

Minden szerzőt 100 különlenyomat és nyomtatott ívenként 400 forint tiszteletdíj illet meg megjelent munkájáért. Közlésre el nem fogadott kéziratokat a szerkesztőség lehetőleg visszajuttat a szerzőhöz, de felelősséget a beküldött kéziratok megőrzéséért vagy továbbításáért nem vállal.

A Közlemények előfizetési ára kötetenként belföldi címre 40 forint, külföldi címre 60 forint. Megrendelhető belföldre az Akadémiai Kiadónál (Budapest V., Alkotmány u. 21. Bankszámla: 05-915-111-46 sz.), külföldre a „KULTÚRA" Könyv- és Hírlap-Külkereskedelmi Vállalatnál (Budapest I., Fő utca 32. Bankszámla: 43-790-057-181 sz.) vagy annak külföldi képviseleteinél és bizományosainál.

A Magyar Tudományos Akadémia Biológiai Osztálya, valamint az V. Orvosi Tudományok Osztálya a következő idegen nyelvű folyóiratokat adja ki:

1. *Acta Biologica*,
2. *Acta Chirurgica*,
3. *Acta Medica*,
4. *Acta Microbiologica*,
5. *Acta Morphologica*,
6. *Acta Paediatrica*,
7. *Acta Physiologica*,
8. *Acta Botanica*,
9. *Acta Zoologica*

E lapok hivatottak a magyar biológiai és orvosi tudományok eredményeinek legjavával a külföldet megismertetni.

A cikkek német, angol, francia vagy orosz nyelven jelennek meg a szerző kívánsága szerint, összefoglaló pedig további két nyelven. A dolgozatot magyar vagy a megfelelő idegen nyelven a következő címre kell beküldeni:

Acta Biologica szerkesztősége, Budapest IX., Tűzoltó u. 58. (Techn. szerk. Dr. Müller Miklós)

Acta Chirurgica szerkesztősége, Dr. Rényi-Vámos Ferenc szerkesztő, Budapest VIII., Üllői út 87/b.

Acta Medica szerkesztősége, Budapest VIII., Korányi Sándor u. 2. (Dr. Stark Ervin)

Acta Microbiologica szerkesztősége, Országos Közegészségügyi Intézet, Budapest IX., Gyáli út 4. (Techn. szerk. Dr. Dömök István)

Acta Morphologica szerkesztősége, Dr. Törő Imre, Szövet- és Fejlődéstani Intézet, Budapest IX., Tűzoltó u. 58.

Acta Paediatrica szerkesztősége, Dr. Véghelyi Péter szerkesztő, Budapest VIII., Bókay János u. 53.

Acta Physiologica szerkesztősége, Dr. Straub F. Brunó, Orvos-vegytani Intézet, Budapest VIII., Puskin u. 9.

Acta Botanica szerkesztősége, Természettudományi Múzeum, Növénytár, Vajdahunyadvára. (Techn. szerk. Allodiatoris Irma)

Acta Zoologica szerkesztősége, Dr. Dudich Endre, Állatrendszertani Intézet, Budapest VIII., Puskin u. 3.

A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA

BIOLÓGIAI TUDOMÁNYOK OSZTÁLYÁNAK

KÖZLEMÉNYEI

SZERKESZTI

STRAUB F. BRUNÓ

VIII. KÖTET

AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST
1965

TARTALOM

A citológia időszerű kérdései. II. rész

Fridvalszky Loránd: A növényi sejtfal ultrastruktúrája és növekedése 1
Röhlich Pál: Állati fotoreceptorok ultrastruktúrája 33
Hámori József: Idegsejtek organellumai és idegvégződések 63
Salánki János—Lábos Elemér: Izom- és idegsejtek elektrofiziológiai vizsgálómódszerei 89

Útibeszámoló

Bálint Andor: Mutánsok felhasználása a növénynemesítésben című konferenciáról 119

Az MTA Közgyűlés keretében megtartott osztályrendezvények, előadások:

Straub F. Brunó: MTA Biológiai Tudományok Osztálya Vezetőségének beszámolója ... 125
Ernst Jenő: A biokibernetika problémáiról 149
Flerkó Béla—Ádám András és Székely György: Kísérlet biológiai ciklus matematikai logikai elemzésére 151
Biró Gábor—Királyfalvi László: Az ingerület mint kódolt információ 157
Székely György: Elméleti ideghálózat kétéltűek járómozgásának modellálására 161
Ladik János: A fehérjeszintézis kódolása 165
Előd Pál: Globuláris fehérjék szerkezetfenntartó erőinek kooperatív együttműködése .. 173
Röhlich Pál—Török László—Oláh Imre: Riboszóma-helixek 179
Niedetzky Antal: A mechano-kémiai kapcsolás és az izom hypertrophiája 189
Dénes Géza—Faragó Anna: Az arginin bioszintézis allosztérikus enzimjének tulajdonságai Chlamydomonas reinhardtiban 195

Tudománypolitikánk 20 éve

Horváth Imre: A biológiai tudományok helyzete és fejlődése hazánk felszabadulása óta eltelt 20 évben 203
Kontra György: A biológiatanítás két évtizede 215

Önálló tanulmányok

FARKAS Gábor: A növénybetegségek és a növényi betegségellenállóság enzimológiai vonatkozásai (akadémiai székfoglaló előadás) 223
DONHOFFER Szilárd: A thermoregulációs hőtermelésről (akadémiai székfoglaló előadás) 239
M. SABOURDY: Laboratóriumi állatok előállításának modern módszere 255
W. LANE-PETTER: A laboratóriumi állat — műszer és vegyszer 267

Akadémikusaink köszöntése

KOCZKÁS Gyula: Ernst Jenő professzor 70 éves 281
KOTLÁN Sándor: Dudich Endre professzor 70 éves 285

Időszerű genetikai kérdések, I.

CSÁNYI Vilmos: A genetikai információ alapjai 289
SZENDE Kálmán: A molekuláris genetika módszertani kérdéseiről 311
SIK Tibor: A bakteriofágok genetikai finomszerkezete 335
ALFÖLDI Lajos: Baktériumok regulációs mechanizmusai 359
BÁLINT Andor: A magasabbrendű szervezetek mutációs jelenségei 377

A CITOLÓGIA IDŐSZERŰ KÉRDÉSEI, II.

Tihany, 1964. szeptember 7—11

A NÖVÉNYI SEJTFAL ULTRASTRUKTÚRÁJA ÉS NÖVEKEDÉSE

FRIDVALSZKY LORÁND

ELTE Alkalmazott Növénytani és Szövetfejlődéstani Intézetének
Elektronmikroszkóp Laboratóriuma, Alsógöd

Bevezetés

Kevés kivételtől eltekintve, a növényi sejtek alapvető sajátsága, hogy cytoplasmájuk felületén szilárdnak mondható sejtfallal, a cytoplasma belsejében pedig nagy, sejtnedvvel telt vacuolummal rendelkeznek. Nem lehet kétséges, hogy e két strukturális sajátság együttes megjelenése nem véletlen, és élettani, tehát működési tekintetben szoros kapcsolatban áll egymással. A növényi sejt ilyen berendezkedése, mely nagy hatékonyságú osmosisos rendszert alkot, nyilvánvalóan összefüggésben áll az autotroph táplálkozásmóddal, egyben sajátságosan — mintegy sejtenként — oldja meg a test szilárdításának feladatát még a soksejtű, sőt a legnagyobb termetű növények esetében is.

Morphológiai szempontból a fal adja a növényi sejtek legszembetűnőbb vonását, amennyiben megszabja azok különböző, de jellemző alakját. Ezen túlmenően pedig mind mikroszkópos, mind szubmikroszkópos nagyságrendben, le egészen a molekuláris dimenziókig, határozott struktúrával rendelkezik, mely nagymértékben felelős a sejtfal fizikai, sőt kémiai viselkedéséért is. A sejtfal létezése nyújtott lehetőséget a növény-szövettan (növényanatómia) korai kialakulására már a XVII. században (MALPIGHI és GREW) és ezzel magyarázható, hogy a különböző szövetek, illetve sejttípusok jellemzését a mai leíró növényanatómia is többnyire a sejtek alakja, illetve a sejtfalak fénymikroszkópban jól felismerhető, különböző képződményei, az ún. falvastagodások alapján végzi el.

E dolgozatban először — mint a cím is jelzi — a sejtfal ultrastruktúrájával, annak is alapvető, általánosan érvényes vonásaival kívánunk foglalkozni és nem térünk ki speciális, egyes sejttípusokat jellemző sajátságokra.

Hangsúlyozni kell azonban, hogy amikor a sejtfal ultrastruktúrájáról beszélünk, elsősorban a fal vázát alkotó, nagyrészt kristályos állapotú anyag (vázanyag) szerkezeti viszonyaira gondolunk. Emellett a sejtfalban több más, részben polysaccharid természetű (pl. hemicellulóz, pectin), részben más jellegű (pl. lignin) anyag fordul elő. Ez utóbbiak amorph állapotban vannak, így biológiai értelemben vett struktúrájukról — a szerkezetkutatásban használatos módszereinkkel — nem sok felvilágosítást nyerhetünk. Nem kétséges azonban, hogy a sejtfal képződésében, növekedésében és fizikai, valamint

kémiai tulajdonságainak kialakításában szerepet játszanak. Most csupán annyit jegyzünk meg róluk, hogy egy részük, mint a pectin, alapanyag (mátrix) szerepét tölti be, amelybe a vázanyag képződésekor beágyazódik, más részük pedig, mint a lignin, utólagosan rakódik be (inkrusztálódik) a vázanyag közeibe.

A sejtfal vázanyaga a cellulóz a növényvilág legtöbb csoportjában, így a magvas növényekben, harasztokban, mohákban, a moszatok nagy részében és a moszatgombák *Oomycetes* alosztályában. A gombák többségében a kitin tölti be a vázanyag szerepét. Így a következőkben voltaképpen a cellulóz-váz szerkezetével kell foglalkoznunk. (A kitin-váz struktúrája nagyon hasonló a cellulózéjéhez.) Célszerűnek látszik azonban előbb röviden vázolnunk a kutatások fejlődését.

Már GREW munkájában (1682) található olyan utalás, mely — PRESTON (1952) szerint — a mai értelemben vett sejtfalfibrillum (nem mikrofibrillum !) létezésének sejtéseként fogható fel. MOLDENHAVER (1776—1827), aki először foszlatott növényi szöveteket, rámutatott arra, hogy a szövetekben látható sejtfalak kettősek, azaz minden sejtnek saját fala van. MOHL (1805—1872) határozottan felismerte, hogy a sejtfal réteges szerkezetű. Megkülönböztette az elsődleges és a másodlagos sejtfalat, továbbá hangsúlyozta a másodlagos sejtfal-rétegek szerint történő vastagodását (appozíció).

Mindezek a felismerések azonban csak tág értelemben és korabeli viszonylatban tekinthetők finomszerkezeti jellegűeknek. A szoros értelemben vett szubmikroszkópos sejtfalkutatás tulajdonképpen NÄGELI (1817—1891) munkásságával kezdődik, aki először használta kellő felkészültséggel és eredménnyel a polarizációs mikroszkópot a sejtfal (és a keményítőszemek) vizsgálatára. A múlt század hatvanas éveitől kezdődően kifejtett micellumelmélete, mely szerint a sejtfal apró, mikroszkóppal nem látható, kristályos testecskékből épül fel — mint ismeretes — termékeny elképzelésnek bizonyult a biológiai struktúrakutatásban. A szubmikroszkópos sejtfalvizsgálatok első korszaka tehát a polarizációs mikroszkóp jegyében zajlott és a továbbiakban e téren elsősorban AMBRONN (1856—1927), majd FREY-WYSSLING nevét kell megemlíteni, akik polarizációs optikai úton igazolták a sejtfal micelláris felépítését. Munkásságuk, valamint követőik kutatásai nyomán a sejtfalnak számos finomszerkezeti sajátsága, elsősorban a micellumok lefutásának iránya tisztázódott.

A második korszakot is egy újabb módszer, a röntgendiffraktográfia alkalmazása vezette be. NISHIKAWA és ONO már 1913-ban, tehát az eljárás felfedezése után közvetlenül vizsgálták ilyen módon a kender rostjait, nagyobb fejlődés — ezen a téren — azonban csak a húszas, majd a harmincas évek folyamán következett be. Ezzel kapcsolatban elsősorban SPONSLER és DORE (1926), HERZOG és JANCKE (1928), ASTBURY és PRESTON (1937), SISSON (1941), KRATKY (1953) neve említendő. Főként a rostok, a gyapotszál és a *Valonia*

nevű tengeri alga röntgendiffraktográfiai tanulmányozása nyomán mély bepillantást nyertek a cellulóz kristályszerkezetébe.

A harmadik, a legújabb korszak az elektronmikroszkópos sejtfalvizsgálatokkal vette kezdetét. Alig több mint 15 évvel ezelőtt sikerült elektronmikroszkópban bizonyosságot szerezni arról, hogy a cellulóze-sejtfalban mintegy 150—300 Å vastagságú mikrofibrillumokból felépülő szövedék alkotja a sejtfal vázát (Frey-Wyssling, Mühlethaler, Wyckoff 1948; Preston, Nicolai, Reed, Millard 1948). A micellumoknál nagyobb szerkezeti elemek létezését korábban, az indirekt módszerek eredményei alapján csak feltételezték, de az elektronmikroszkópos vizsgálatok előtt azt bizonyítani nem lehetett.

A sejtfalváz ultrastruktúrája

A cellulóz vázanyag szerepét tölti be a sejtfalban. Ez annyit jelent, hogy a cellulóz rendelkezik kristályos, valamint sajátságos szubmikroszkópos szerkezettel és jellegzetes felépítését még akkor is megtartja, ha minden egyéb anyagot eltávolítunk a sejtfalból. A cellulóz-váz alapvető szerkezeti sajátságai — bizonyos mértékig — egyaránt érvényesek az alacsonyabb rendű, valamint a magasabb rendű növények körében, így a cellulóz-sejtfal finomszerkezetére vonatkozó ismereteink kialakításában mind az algákon, mind pedig a száras növényeken végzett kutatások egyaránt lényeges szerepet játszottak.

A sejtfal cellulóz-váza, jelenlegi tudásunk szerint, az alábbi amikroszkópos, ill. szubmikroszkópos nagyságrendű szerkezeti egységekből épül fel: a cellulóz-molekula, a cellulóz-kristályrács, a cellulóz-micellum (elemi fibrillum) és a cellulóz-mikrofibrillum. A mikrofibrillumok nagyobb kötegekké (fibrillumokká) fonódhatnak, illetve rétegeket (lamellákat) alkotnak a sejtfalban. Utóbbiak bizonyos körülmények között, fénymikroszkóppal is észlelhetők.

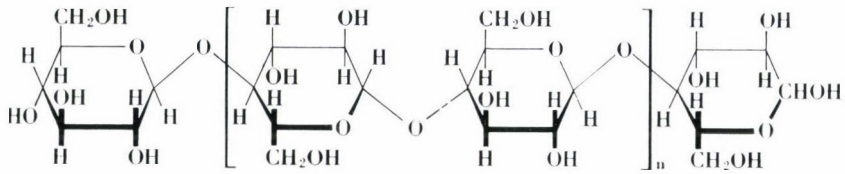
A cellulóz-molekula

A cellulóz — mint az közismert — $(C_6H_{10}O_5)n$ összegképletű poliszacharida. Franchimont már 1879-ben megállapította, hogy a cellulóz teljes hidrolízisekor csupán glukóz keletkezik. A későbbi mélyrehatóbb kvantitatív hidrolízises vizsgálatok, melyek főleg Willstätter és Zechmeister, Monier és Williams, Karrer és Illing, majd Hess és Weltzien nevéhez fűződnek századunk első negyedében, végérvényesen tisztázták, hogy a cellulóz-molekula, víz kilépése közben, d-glukóz-maradékokból épül fel láncszerűen, tehát a d-glukóz lineáris polimerizátumának tekinthető.

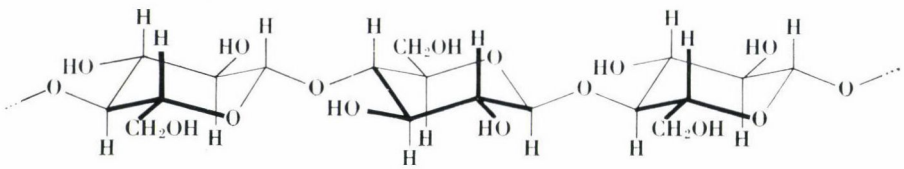
Különös jelentősége volt a cellulóz-molekula kémiai szerkezetének további tisztázásában Haworth megállapításának, mely szerint — mint ismeretes — az aldohexózok, tehát a glukóz is, általában gyűrűs formában fordul elő. Ilyenkor a glukóz-molekula vázát egy heterociklikus gyűrű, az ún.

piranóz képezi (1a kép). Megjegyzendő, hogy a piranóz-gyűrű, mai felfogásunk szerint, nem lehet síkban — mint ahogy azt HAWORTH eredetileg ábrázolta —, hanem görbült, mégpedig a leggyakoribb formájában székszerű alakot vesz fel (1b kép). Így ugyanis a molekulában nem lép fel feszültség, ami egy síkban való elhelyezkedéskor feltétlenül jelentkeznék.

A piranóz-gyűrű záródása következtében az 1-es szénatom is aszimmetrikussá válik, s így a gyűrűs szerkezetű d-glukóznak két izomérje lehetséges aszerint, hogy az 1-es és a vele szemben elhelyezkedő 4-es szénatomhoz kapcsolódó H és OH csoportok azonos helyzetben (alfa-D-glukóz) vagy egymáshoz képest fordítottan helyezkednek el (béta-D-glukóz). A cellulóz-molekula szer-



1a kép. A cellulóz-láncmolekula egy részletének szerkezeti képlete. A szögletes zárójelek egy cellobióz egységet határolnak



1b kép. A cellulóz-molekula egy részletének szerkezete. A piranóz-gyűrűk síkja a valóságban székszerűen görbült

kezetét tekintve alapvető megállapítás, hogy a cellulózét béta-D-glukóz maradékok építik fel. A gyűrűs szerkezetű glukóz-molekulák között a kötés az 1-es és 4-es szénatomokon levő OH csoportok között keletkezik, víz kilépése mellett, O híd létrejöttével. A béta-forma esetében ez csak úgy lehetséges, ha a kapcsolódó két glukóz-gyűrű egymáshoz képest 180°-kal elfordul. Az így keletkező diszaccharid a cellobióz (1. kép). A cellulóz-láncmolekulában tehát a piranóz-gyűrűk egymáshoz képest 180°-os elfordulással váltakozva helyezkednek el, s így — szerkezeti szempontból — a cellulóz-molekula építő egysége voltaképpen a cellobióz. Érdemes megemlíteni, hogy a növények másik fontos poliszaccharid produktuma, a keményítő, alfa-D-glukóz polimerizátum, s így benne a glukóz-maradékok azonos helyzetben sorakoznak. Ezzel a szerkezeti különbséggel magyarázható az a tény, hogy a cellulóz-molekulák oldatban is kinyújtott állapotban maradnak, míg a keményítő-molekulák összegöngyölődésre hajlamosak.

A cellulóz-molekula szerkezetének felderítésében, a kémiai kutatások mellett, fontos szerepet játszottak a röntgendiffrakciós vizsgálatok. Ezek szerint a cellulóz-molekula hosszában az azonos csoportok távolsága, az ún. rostperiódus 10,3 Å (MAYER, MISCH 1937, SEN-ROY 1954). A kémiai szerkezeti vizsgálatokkal történt egybevetés útján megállapítható, hogy az említett távolság a cellobióz-maradék — lánc irányban mért — hosszának felel meg. Ebből viszont az is következik, hogy glukóz-maradék hossza 5,15 Å. A gyűrűs glukóz-molekula szélessége 7,35 Å-nek, a vastagsága pedig kb. 3,2 Å-nek adódott. Az utóbbi két adat, mivel a cellulóz lineáris polimerizátum, egyszersmind a cellulóz-molekula szélességét és vastagságát is jelenti.

Nehéz probléma a cellulóz-molekulát felépítő glukóz-maradékok számának, tehát a polimerizációs foknak és ezzel a láncmolekula hosszának a megállapítása, mely a természetes cellulózban minden esetre nagy. STAUDINGER (1932) összefüggést állapított meg a cellulóz-oldat viszkozitása és a láncmolekula hossza között, melyből viszont következtetni lehet a polimerizációs fokra. Ezzel a módszerrel végzett újabb vizsgálatok szerint a lenrost szekundér sejtfalából nyert natív cellulóznak a polimerizációs foka 8000 körülinek adódott (SCHULZ és MARX 1954; MARX 1955). Mivel egy glukóz-maradék hossza kereken 5 Å, így ebben az esetben a cellulóz-láncok hossza elérheti a 4 mikront, tehát a mikroszkopikus nagyságrendet. Ugyanekkor a primér sejtfalból nyert cellulózi polimerizációs foka csak 1500—3000-nek mutatkozott (MARX 1955). Az eddig adatokból tehát arra lehet következtetni, hogy a másodlagos sejtfalak hosszabb cellulóz-molekulákat tartalmazhatnak, mint az elsődleges sejtfalak.

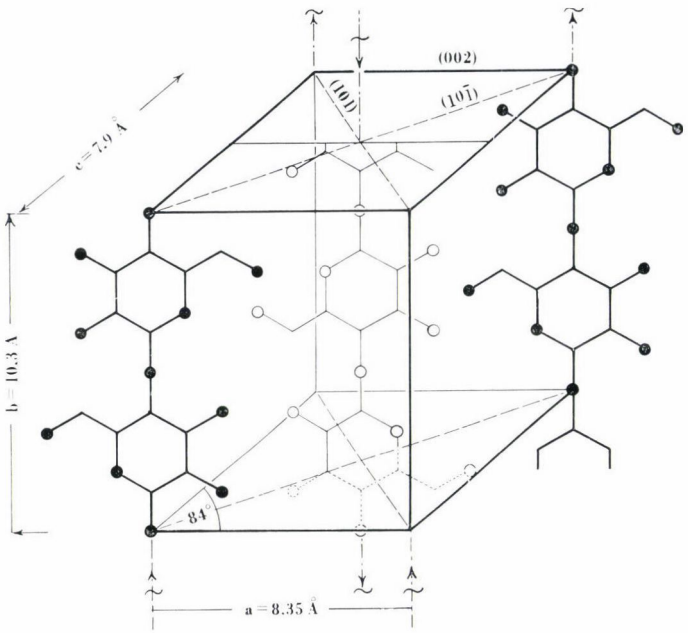
A cellulóz kristályszerkezete

A sejtfal polarizációs mikroszkópban észlelhető saját kettős törése, valamint a kapott röntgen diagramok határozottan arra utalnak, hogy a cellulóz-molekulák a sejtfalban többnyire rendezetten, egymással párhuzamosan helyezkednek el, sőt, ez a rendezettség helyenként olyan fokú, hogy teljes joggal beszélhetünk a cellulóz kristályos felépítéséről.

A cellulóz kristályszerkezetéről alkotott mai ismereteink, melyeket főképp a len, kender és rámi rostokon, valamint a gyapot maghéjszőrökön, továbbá a *Valonia* nevű algán végzett röntgendiffrakciós kutatásoknak köszönhetünk, lényegesebb vonásaiban az alábbiakban foglalhatók össze (SPONSLER és DORE 1926; HERZOG és JANCKE 1928; MEYER és MARK 1930; SPONSLER 1931; ASTBURY 1933; MEYER és MISCH 1937).

A röntgenvizsgálatok igazolták, hogy a cellulóz-molekulák kristályrácsba rendeződnek, a cellulóz-kristályrácsnak elemi teste (elemi cella) pedig monoklin szimmetriájúnak bizonyult. Egyszersmind az is kiderült, hogy a növények sejtfalában nemcsak egyféle, tehát az eredetileg natívnak nevezett cellulóz fordul elő, hanem az ún. hidrát vagy mercerizált cellulóz is (SISSON

1938; NICOLAI és PRESTON 1952). Az utóbbiról korábban azt gondolták, hogy csak mesterségesen előállított termék és a természetben nem fordul elő. A kétféle cellulóz kémiai összetétele azonos, a különbség a kristályszerkezetükben mutatkozik. Mivel a hidrát cellulóz nem tartalmaz kristályvizet, helyesebb a cellulóz I. (natív cellulóz) és a cellulóz II. (hidrát cellulóz) elnevezés. Megjegyzendő még, hogy a száras növények sejtfalában eddig csak a cellulóz I-et találták, a cellulóz II. bizonyos moszatcsoportokban alkotja a sejtfal vázát.



2. kép. A cellulóz I. kristályrácsának elemi cellája

A kristályrács monoklin szimmetriájú elemi testének felépítéséről, a cellulóz I. esetében, a következőket mondhatjuk (2. kép) (MEYER és MISCH 1937). A cellulóz-láncmolekulák az elemi test *b* tengelyével párhuzamosan futnak. Ebben az irányban mért azonossági periódus — mint azt már az előbb is említettük — 10,3 Å, mely egyúttal a cellulóz rostperiódusa is, és mely egyezik a cellobióznak a kémiai szerkezeti vizsgálatokból számított hosszúságával. Fentiekből következik, hogy az elemi testben a *b* tengely mentén, egy-egy cellobióz-maradék foglal helyet. Az elemi testnek az *a* tengely irányában mért élhossza 8,35 Å, a *c* tengely irányában mért élhossza pedig 7,9 Å. Az *a* és *b* tengely által bezárt béta-szög 84°. Az elemi test 4 leghosszabb éle mentén — tehát a *b* tengellyel párhuzamosan — egy-egy cellobióz-maradék van, egy pedig az elemi cella közepében helyezkedik el. Ez utóbbi az előző 4-hez

képest, egy glukóz-maradék felének hosszával eltolódott. A piramóz-gyűrűk síkjai az *a* és *b* tengely által meghatározott síkban fekszenek s így egymással párhuzamosak. Az elemi test közepén fekvő cellobióz-maradék azonban, az élen elhelyezkedőkhöz képest, 180°-kal elfordult.

A cellulóz kristályrácsát összetartó erők háromfélék és ezek nagyrészt összefüggésben vannak a háromféle kristálytani iránnyal. A *b* tengely, tehát a láncmolekula hosszának irányában, a glukóz-maradékok kovalens kötésekkel kapcsolódnak egymáshoz, fővegyérték láncot alkotva. Az *a* tengely irányában H kötések keletkeznek a szomszédos láncok O atomjai között, melyek kb. 2,5 Å távolságra vannak egymástól. A *c* tengely irányában főképp van der Waals-féle erők hatnak. Újabb vélemény szerint (FREY-WYSSLING 1955) a *c* tengellyel közel egyező irányban is alakulhatnak ki H kötések. Mindenesetre a cellulóznak ilyen térrács szerkezete sok tekintetben érthetővé teszi a cellulóz sajátságos viselkedését, főként nagy ellenállóképességét fizikai és kémiai behatásokkal szemben, mely csupán a fővegyérték-kötésekkel nem lenne magyarázható.

A cellulóz II-re vonatkozóan annyit jegyzünk meg, hogy ez az elemi test alakjában és bizonyos fokig méreteiben tér el a cellulóz I-től. Kristályrács állandói a következők: a *b* tengely irányában (rostperiódus) 10,3 Å, az *a* tengely irányában 8,14 Å, a *c* tengely irányában 9,14 Å, a béta-szög 62°.

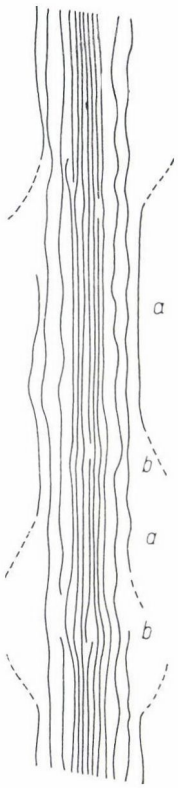
A cellulóz-micellum (elemi fibrillum)

A micellumok, tehát mikroszkóppal nem látható kristályos részecskék létezését, először NÄGELI (1864) tételezte fel a sejtfalban, polarizációs mikroszkópi vizsgálatok alapján. A sejtfal micelláris szerkezetéről alkotott elképzelés igen termékenynek bizonyult, bár mai felfogásunk a micellumokról sok tekintetben módosult az eredeti elképzeléshez képest. A micellaelmélet továbbfejlesztője AMBRONN. MARK és MEYER (1930) röntgendiffraktográfiai vizsgálataik során, főképp a diagram csíkjainak szélessége alapján meghatározták a micellumok méreteit is. A micellum hossza legalább 600 Å-nek, a szélessége pedig kb. 60 Å-nek adódott. Az elméletnek ez a formája azonban, mely a micellumokat különálló testeknek tartotta — tekintetbe véve a cellulóz fizikai és kémiai sajátságait, elsősorban a szilárdsági viszonyokat, a nyújthatóságot, duzzadóképességet, adszorpciós jelenségeket és kémiai viselkedést — tarthatatlannak bizonyult.

A cellulóz micelláris szerkezetéről és a cellulóz-micellumról alkotott mai felfogásunk, mely főleg ASTBURY, PRESTON, FREY-WYSSLING, HERMANS, KRATKY, MARK és MEYER, valamint STAUDINGER kutatásai alapján alakult ki, az alábbiakban foglalható össze.

A sejtfalban nincsenek a régi értelemben vett, egymástól független, különálló cellulóz-krisztallitok, hanem csak olyan térrészletek, melyekben

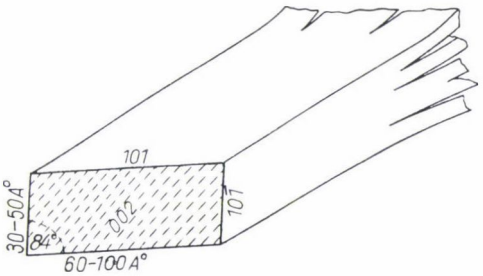
az ott lefutó cellulóz-láncmolekulák, egymással szigorúan párhuzamosan, kristályrácsba rendeződnek. A láncmolekulák azonban nem végződnek el a kristályos terek határainál, hanem folytatódnak, most már azonban kevésbé rendezett, nem kristályos állapotot mutatva, majd bizonyos távolságon túl ismét szigorúan rendezett szerkezetbe tömörülnek (3. kép). A mai értelemben vett micellumok tehát, a sejtfalban lefutó cellulóz-lánckötegeknek azok a rész-



3. kép. Egy elemi fibrillum részlet hosszanti lefutásának vázlata. A vonalak egy-egy cellulóz-láncmolekulát jelentenek, „a" micelláris részletek, „b" paramicelláris részletek

etei, melyek szigorúan kristályos szerkezetűek. A kristályos helyek közötti térrészletek, melyekben a micellumokat folyamatosan összekötő, de nem kristályos szerkezetű cellulóz-láncok futnak, az ún. paramicelláris részletek. Ebben az esetben érthető, hogy a röntgenológiai vizsgálatok különálló, független krisztallitok létezését bizonyították, mivel a röntgensugarak csupán a kristályos részletekről adnak jellegzetes diagramot, a közbülső — bár cellulóz-állományú, de nem kristályos szerkezetű helyek — a röntgendiagramok szerint üresnek tűnnek.

A micellumok alakját és méreteit is sikerült nagy valószínűséggel megállapítani (RANBY 1957; TREIBER 1957). A cellulóz-micellum minden jel szerint hosszú, kissé lapított pálcika, vagy inkább léc alakú test (4. kép). A hosszára vonatkozó adatok meglehetősen sokfélék, bizonyos azonban, hogy 600 Å-nél nem kisebb, de elérheti a több ezer Å hosszúságot is. A szélessége valószínűen 60—70, esetleg 100 Å körül, a vastagsága pedig 30—50 Å körül van. Tekintetbe véve a cellulóz-molekula méreteit, kristályszerkezetét és a micellum fenti valószínű méreteit, megállapítható, hogy egy micellumban megközelítően 100 láncmolekulának kell elhelyezkednie. A láncmolekulák piranóz-gyűrűinek síkja azonban nem párhuzamos a micellum egyik oldalával sem, hanem megközelítően átlós irányban helyezkedik el (4. kép). Ebből



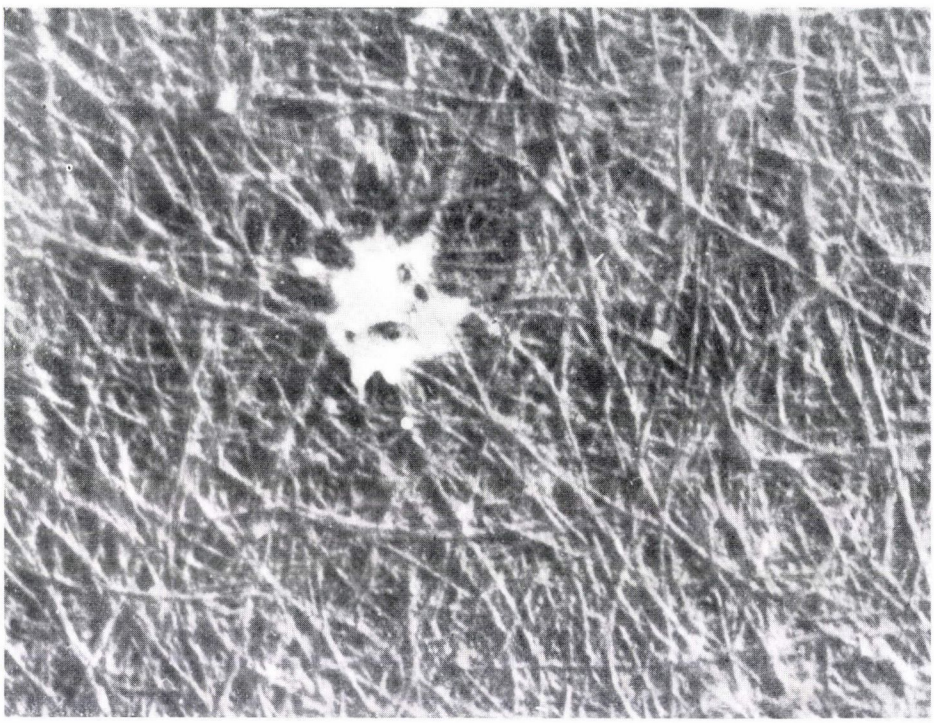
4. kép. A cellulóz-micellum térbeli vázlata. Az elülső oldalon látható ferde helyzetű vonalkák egy-egy cellulóz-molekula metszetét (éle felől nézett piranóz-gyűrűt) jelölik

az is következik, hogy a kristályrács elemi cellájának *a b*, valamint a *c b* tengelyek által meghatározott oldalsíkjai ugyancsak nem párhuzamosak a micellum oldalaival, hanem szintén megközelítően átlós helyzetűek (4. kép). A micellum szélesebbik oldala egyébként a 101, a keskenyebbik oldala pedig $10\bar{1}$ kristálylapoknak felel meg. A piranóz-gyűrűk síkja ugyanakkor 002 indexű lappal párhuzamos. A micellumoknak a sejtfalban elfoglalt helyzete úgy jellemezhető, hogy a micellum szélesebbik, 101 indexű oldala van párhuzamosan a sejtfal felületével, míg a keskenyebbik, $10\bar{1}$ oldal megközelítően merőleges erre.

Hangsúlyoznunk kell azonban, hogy amikor a micellum oldalsíkjairól beszélünk, ezt csak megközelítéssel tehetjük, mert a micellum oldalai minden bizonnyal nem határozott síkok, tehát a micellumok és a paramicelláris részletek között nincs éles határ. Sokkal inkább úgy kell elképzelnünk, hogy a micellumok felületéhez közeledve a kristályrács szerkezetében egyre több zavar áll fenn, s így bizonyos mértékig fokozatosan jutunk át a paramicelláris részbe, mely viszont nem tekinthető egyszerűen amorfnak — mint azt régebben gondolták — hiszen ugyancsak láncmolekulák helyezkednek el benne, mégpedig irányítottan, többé-kevésbé párhuzamosan, ha nem is kristályrácsba tömörülve.

A cellulóz-mikrofibrillum

Sokáig vitatott kérdés volt (FREY-WYSSLING 1937; ASTBURY és PRESTON 1940), hogy a micellumokon túlmenően vannak-e nagyobb szubmikroszkópos szerkezeti egységek a cellulóz-sejtfalban. A kérdést az elektronmikroszkóp döntötte el, mintegy 16 évvel ezelőtt, amikor elsőnek FREY-WYSSLING, MÜHLETHALER és WYCKOFF (1948), illetve PRESTON, NICOLAI, REED és MILLARD (1948) közvetlenül meglátták és lefényképezték a mikrofibrillumokat a sejtfalban.

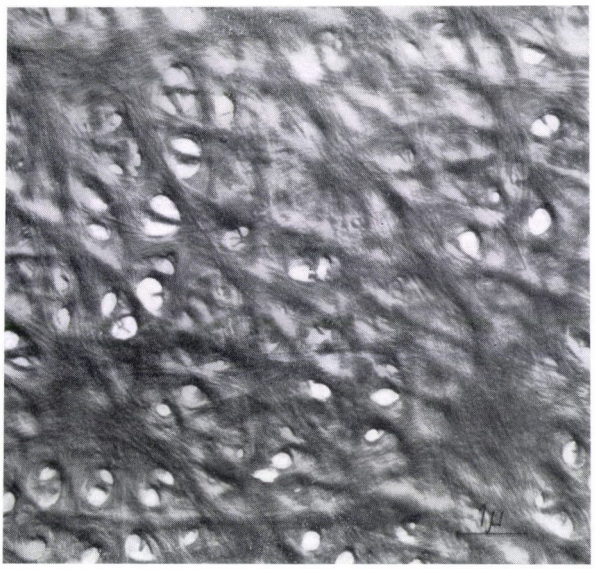


5. kép. Rendezetlenül elhelyezkedő cellulóz-mikrofibrillumok szövedéke a *Chara hispida* tengelysejtjének elsődleges falában. Elektronmikroszkópos felvétel, nagyítás: 30 000-szeres (eredeti)

A mikrofibrillumok a cellulóz-váz legsajátságosabb szubmikroszkópos építő egységeinek tekintendők. A sejtfal elektronmikroszkópban cellulóz-mikrofibrillumok szövedékének tűnik (5. és 6. kép). A mikrofibrillum fonálszerű, hossziránybán vett természetes elvégződését nem sikerült megfigyelni a sejtfalban, így hosszúságát még egyetlen esetben sem lehetett meghatározni. Bizonyosra vehető azonban, hogy eléri a mikroszkópos méretet. A vastagsága a különböző vizsgálatokban 100—300 Å közötti értéknek adódott. Leggyako-

ribb és legvalószínűbb 150—250 Å. Utalásokat találunk arra nézve, hogy a mikrofibrillumok nem hengeres alakúak, hanem lapítottak, a szélesség és vastagság aránya mintegy 2 : 1 lenne (PRESTON 1952; FREY-WYSSLING 1959). Újabban ezt nem erősítették meg (MÜHLETHALER 1960).

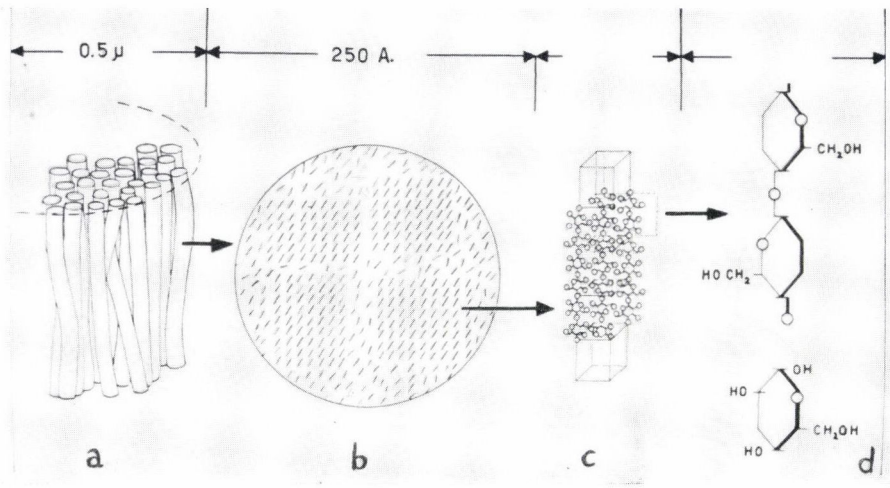
Nem egészen világos és vitatott kérdés még a mikrofibrillumok belső finomabb szerkezete. Megemlíthető azonban, hogy megfelelő savas hidrolízis és vizes kimosás után opaleszkáló oldat keletkezik, melynek beszárított maradékában, elektronmikroszkóppal, mintegy 50—100 Å szélességű és több száz,



6. kép. Porózus falrészlet a *Tolypellopsis stelligera (Characeae)* tengelysejtjének falában. A mikrofibrillumok részben irányítottan helyezkednek el és körülfonják a pórusokat. Elektronmikroszkópos felvétel, nagyítás 16 000-szeres. (Eredeti)

olykor több ezer Å hosszúságú lapos, pálcikaszerű testeket lehet nagy számban kimutatni (RANBY 1958). Az említett adatok meglehetősen egyeznek a micellumok röntgenológiai úton kapott valószínű méreteivel. MÜHLETHALER (1960) megfigyelte elektronmikroszkópban a mikrofibrillumok finomabb rostozott felépítését. A micelláris rendszerre vonatkozó röntgenológiai és a mikrofibrilláris szerkezetet feltáró elektronmikroszkópos vizsgálatok egybevetése arra a következtetésre vezetett, hogy a mikrofibrillumok hosszukban — minden valószínűség szerint — néhány micelláris kötegből (elemi fibrillumból) épülnek fel. A micelláris köteg vagy elemi fibrillum — a mikrofibrillum hossztengelye irányában egymás alatt elhelyezkedő — micelláris és paramicelláris részletek összefüggő láncolata lenne. FREY-WYSSLING elképzelése szerint, a mikrofibrillumban 4—6 elemi fibrillum rendeződik oly módon, hogy oldalaikkal párhuzamosan helyezkednek el (7. kép) (FREY-WYSSLING 1954, 1957).

Mindenesetre tényként fogadható el, hogy az elektronmikroszkóppal feltárható nagyságrendben a sejtfal cellulóz-vázát mikrofibrillumok szövedéke alkotja. A szövedék, rendezettségét tekintve, két fő formában jelenhet meg. Az egyik esetben rendezetlennek tűnik, a másik esetben a mikrofibrillumok azonos irányban, egymással többé-kevésbé párhuzamosan helyezkednek el (8. kép). Az előbbi szerkezet általában az elsődleges sejtfalakra jellemző. Hangsúlyozni kell azonban, hogy a rendezetlenség itt sem teljes, mivel a mikrofibrillumok — bizonyos szóródástól eltekintve — a sejtfal tangenciális irányú síkjában helyezkednek el és a „rendezetlenség" megjelölés tehát azt fejezi ki,

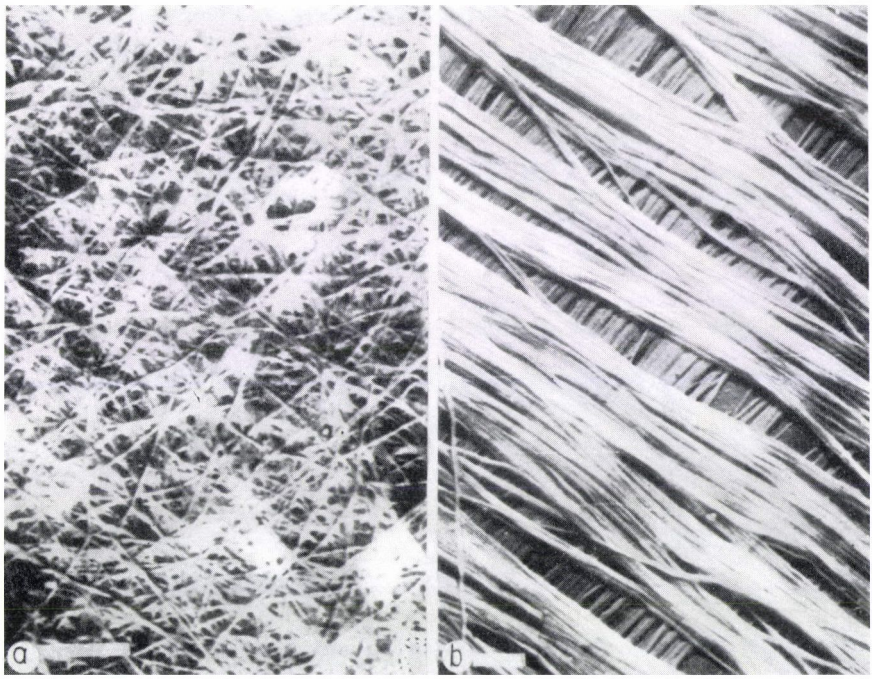


7. *kép.* A sejtfal cellulóz-vázának szerkezeti egységei: „a" mikrofibrillumok kötegéből álló makrofibrillum, „b" egy mikrofibrillum keresztmetszetének vázlata négy elemi (micelláris) fibrillummal, „c" a micellum kristályrács részlete, „d" a β-d-glukóz és a cellobióz-molekula szerkezete (MÜHLETHALER 1962)

hogy ebben a síkban különböző irányban húzódnak. A rendezett szerkezet általában a másodlagos sejtfalak jellemző sajátsága, és itt határozott párhuzamos irányítottság uralkodik. Megjegyzendő még, hogy a másodlagos sejtfal egyes rétegeiben a mikrofibrillumok gyakran váltakozó irányban szoktak elhelyezkedni.

Ha a másodlagos sejtfalban — a sejt alakjának egészére nézve vesszük tekintetbe a mikrofibrillumok lefutását — akkor 3 főtípust állapíthatunk meg: a rostszerkezet esetében a mikrofibrillumok a sejt hossztengelyével közel párhuzamosan, azzal hegyesszöget bezárva, igen meredek csavarvonalban futnak le (pl. rostok). A spirális szerkezetnél a mikrofibrillumok lefutása 45° körüli szöget zár be a hossztengellyel (pl. tracheidák). A gyűrűs szerkezet esetében a mikrofibrillumok hossztengelye majdnem merőlegesen fut, valójában igen lapos csavarvonalat alkot (pl. tracheák). A mikrofibrillumok nem a leg-

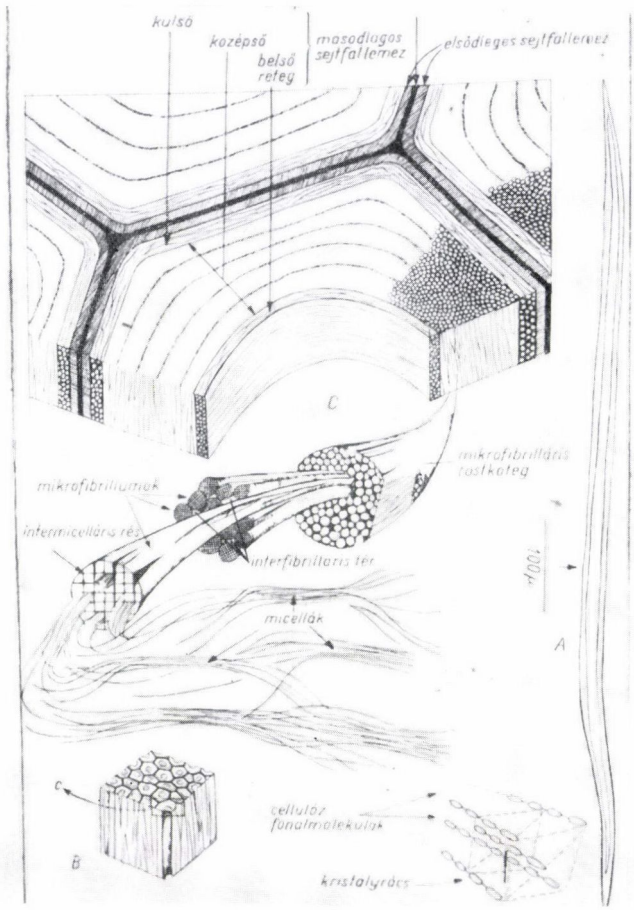
nagyobb szerkezeti egységei a sejtfalnak. Főként rostok falában, különösen, ha azokat előzetesen hajlítgatjuk és híg savval kezeljük, fénymikroszkóppal észlelhető, mintegy 0,4—0,8 mikron vastag, ún. makrofibrillumokat lehet látni. Lefutásuk iránya megegyezik a mikrofibrilláltság irányával, és nem kétséges, hogy mikrofibrillumok kötegekké rendeződése révén keletkeznek. Úgy látszik, hogy vannak olyan mikrofibrillum kötegek is, melyek még nem érik el a fénymikroszkópos láthatóság határát (9. kép).



8. kép. A *Valonia* sejtfalának elektronmikroszkópos képe: „a" elsődleges sejtfal rendezetlen mikrofibrillum szövedéke, „b" másodlagos sejtfal két lamellája, melyekben a mikrofibrillumok párhuzamosan rendeződnek és kötegekbe (makrofibrillumokba) tömörülnek (STEWARD és MÜHLETHALER 1953)

Szükséges még rámutatni arra, hogy a sejtfal micelláris és mikrofibrilláris felépítésével együtt jár, hogy benne intermicelláris és interfibrilláris üregek, ill. üregrendszerek alakulnak ki. Ezekben víz, valamint részben alapállománynak, részben inkrusztációnak minősített anyagok vannak (pektin, hemicellulóz, lignin stb.), melyek lényeges szerepet játszanak a sejtfal tulajdonságainak kialakításában.

Befejezésként egy táblázatot közlünk FREY-WYSSLING (1959) nyomán, amely számszerű viszonyokban mutatja be egy rámirost szerkezetét a cellulózmolekulától a mikrofibrillumig, sőt a teljes rostig.



9. kép. Egy rost-sejtfal felépítésének térbeli vázlata mikroszkópos, szubmikroszkópos és molekuláris nagyságrendben

	Keresztmetszet felület		A cellulóze-láncok száma
Cellulóze-láncmolekula	$8{,}35 \times 3{,}95 \times \sin 84°$	$A^2 = 32{,}8\ A^2$	1
Elemi fibrillum	$30 \times 100 — 50 \times 60$	$A^2 = 3000\ A^2$	100
Mikrofibrillum	250×250	$A^2 = 62\,500\ A^2$	2 000
Makrofibrillum	$0{,}4 \times 0{,}4$	$u^2 = 0{,}16\ u^2$	500 000
Rámirost	125×6	$u^2 = 750\ u^2$	2 000 000 000

A sejtfal növekedése

A sejtek fejlődésének fontos mozzanata a falképződés megindulása, mely szabadon fejlődő sejtek, pl. rajzóspórák esetében a cytoplasma egész felületére kiterjed, szöveti sejteknél pedig, eleinte, a magorsó ekvátoriális síkjában létrejövő új válaszfalra korlátozódik.

A fiatal sejtek, miután cytoplasmájuk felületén szintetizálódott az első sejtfallamella, tehát kialakult az ún. primér sejtfal, növekedni kezdenek, sőt ezzel egyidejűleg többnyire alakjuk és szerkezetük is jellemző változásokon megy át, azaz differenciálódnak. E fejlődési folyamatoknak részese a sejtfal is, amennyiben benne képződés, növekedés és differenciálódás egyaránt felismerhető. A falképződési és növekedési folyamatok, valamint a differenciálódási jelenségek természetszerűen nem külön-külön történnek, hanem nagyrészt egymással összeszövődve mennek végbe, ezért a sejtfal fejlődése a maga egészében nagyon bonyolult, nehezen analizálható folyamat. Ez alkalommal a sejtfalfejlődés problematikáján belül, a szorosabb értelemben vett falképződés és növekedés néhány alapvető kérdését kívánjuk megbeszélni, annál is inkább, mivel a sejtfal differenciálódása is nagyrészt növekedési folyamatokon alapul, illetve azok következménye.

A sejtfal képződése

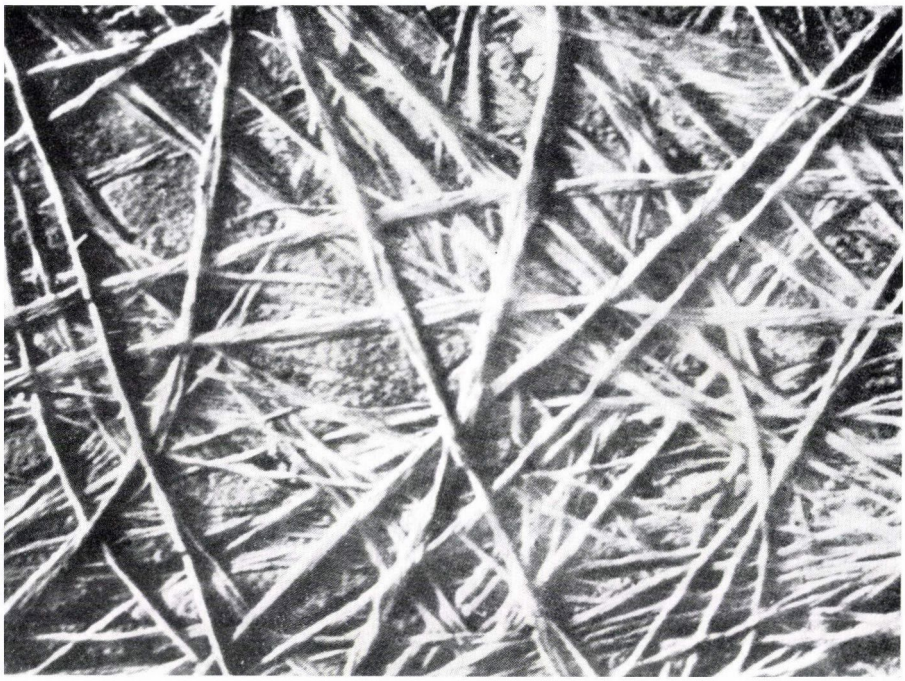
Előrebocsátjuk, hogy a következőkben is elsősorban a vázanyagra, tehát a cellulózra leszünk tekintettel. A cellulóz mikrofibrillumok létrejöttével összefüggésben nem érdektelen az a tény, hogy az *Acetobacter xylinum* nevű baktérium glukóz-tartalmú tápanyagban cellulózt szintetizál, mégpedig a sejteket körülvevő nyálkaanyagban, tehát extracellulárisan. A baktériumcellulóz kémiai és szubmikroszkópos szerkezete azonosnak bizonyult a magasabb rendű növényekben előforduló cellulózzal, elektronmikroszkópban épp úgy mikrofibrillumok szövedékének mutatkozott (10. kép) (Mühlethaler 1949). Elvi szempontból különösen figyelemre méltó az a körülmény, hogy a cellulóz szintézis (polimerizáció és kristályosodás) protoplasmán kívül is lehetséges. Fagyasztvaszárított baktériumokkal is sikerült cellulóz szintézist előidézni, ami arra vall, hogy a folyamatot katalizáló enzimek nem a sejt belsejében, hanem annak felületén a sejthártyában helyezkednek el (Hestrin és Schramm 1954).

A cellulóz bioszintézisének kémiai folyamataiba is sikerült bizonyos fokú betekintést nyerni az *Acetobacter xylinum* esetében. C^{14}-el jelzett, radioaktív glukózzal végzett kísérletek szerint a gluko-piranóz gyűrűk valószínűen nem közvetlenül épülnek be a cellulóz-láncmolekulába, hanem előbb kisebb, három szénatomos molekulákra bomlanak és a továbbiakban ezek polymerizálódnak (Schramm 1955).

Alapvető megállapításokra nyújtott lehetőséget a baktériumcellulóz tanulmányozása a mikrofibrillumok keletkezésének mértékét, továbbá a mikrofibrillumok növekedésének mikéntjét illetően (Hestrin és Schramm 1954). Cellulózmentes baktériumok táptalajra való helyezése után 1—2 perccel megjelennek a mikrofibrillumok és ilyenkor már kétszer olyan hosszúak, mint a sejt. Kb. 10 perc múlva szövedéket alkotnak, melyben nem ismerhetők fel a

végeik (COLVIN—BAYLEY—BEER 1957). A mikrofibrillumok tehát hosszanti irányban növekednek mindkét végükön, meglehetősen gyorsan, és ami ugyancsak fontos, a hosszanti növekedés során a mikrofibrillumok már nem vastagodnak, végig megtartják eredeti átmérőjüket.

E megállapítások értékét fokozza az a körülmény, hogy hasonló megfigyelések véghezvitele a magasabb rendű növények sejtfalában nehezen elkép-



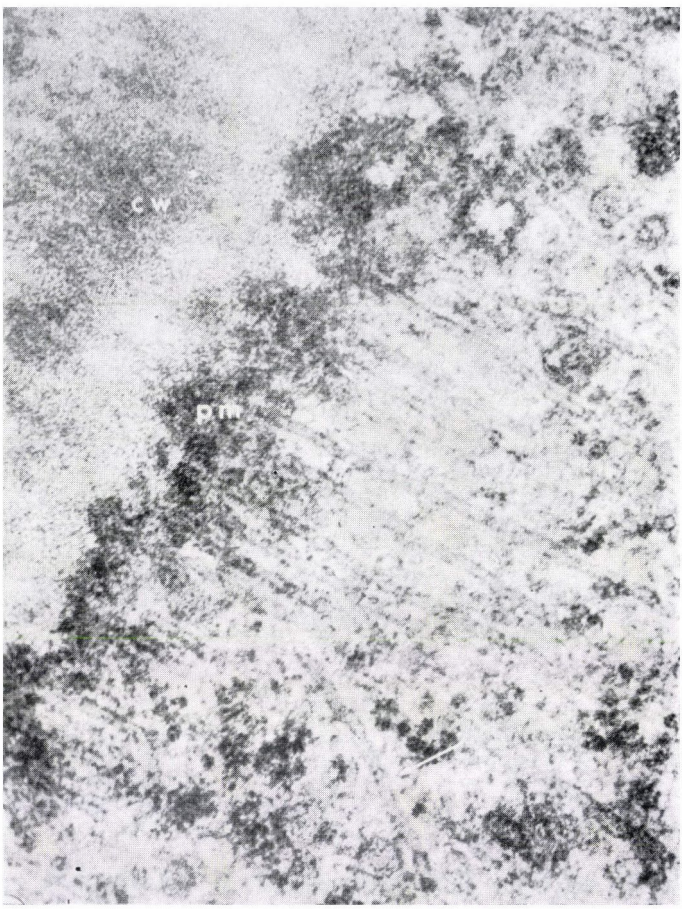
10. kép. Az *Acetobacter xylinum* extracelluláris cellulózjának mikrofibrillumai (MÜHLETHALER 1949)

zelhető. A kétféle eredetű cellulóz kémiai és szerkezeti azonossága viszont megengedi, hogy a baktériumcellulóz képződésének és növekedésének sajátságaiból — bizonyos mértékig — következtetést vonjunk le sejtfalváz kialakulását és növekedését illetően a magasabb rendű növényekben. Annál is inkább megtehetjük ezt, mert a nyálkagombák körébe tartozó *Dictyostelium discoideum* esetében, a sporophor kialakulásakor, a cellulózfal képződésének mind extracelluláris, mind intracelluláris módja megtalálható. A mikrofibrillumok vastagsága — az elektronmikroszkópos vizsgálatok szerint — mindkét eredetű cellulóznál azonosnak bizonyult, csupán a mikrofibrillumok lefutásának rendezettségében mutatkozott különbség a kétféle falrétegben. Az extracelluláris cellulóz rendezetlen, az intracelluláris cellulóz pedig többé-kevésbé párhuzamosan orientált mikrofibrillumokat alkot (MÜHLETHALER 1956).

Szabadon fejlődő algasejteken, így a *Valonia* aplanospóráin (STEWARD és MÜHLETHALER 1953), továbbá a *Chaetomorpha* rajzóspóráin és gametáin (NICOLAI 1957) elektronmikroszkóppal megfigyelhető volt, hogy a cellulózmikrofibrillumok a cytoplasma felületén jelennek meg, eleinte kusza hálózatot alkotva. Határozottan megállapíthatták azt is, hogy a mikrofibrillum szövedék — természetes állapotban (mielőtt az elektronmikroszkópos vizsgálatra előkészítik) — főként pectinből álló, amorph alapanyagba (matrix) ágyazódik be. E kétfázisú rendszer, amorph alapanyag és kristályos mikrofibrillum jelenti nyilvánvalóan a szóban forgó sejtek falképződésének kezdetét, egyben első sejtfalát, illetve a leendő teljes sejtfalnak első lamelláját. Joggal feltételezhetjük, hogy e kezdeti sejtfalréteg megfelel a száras növények szöveti sejtjeiben az elsődleges sejtfalnak, melyre ugyancsak jellemző a mikrofibrillumok lazább rendezetlen elhelyezkedése és az amorph pectin-alapállomány nagy mennyisége (FREY-WYSSLING 1959). A szöveti sejtek esetében azonban természetszerűen nehezebb a sejtfalképződés kezdeti szakaszának megfigyelése. Radioaktív izotóppal végzett vizsgálat szerint az *Avena* coleoptilban, a C^{14}-el jelzett glukóz felvételekor, a bejutott anyag legnagyobb része a pectinben halmozódott fel (ORDIN—CLELAND—BONNER 1955). Az elsődleges sejtfal képződésekor tehát az alapanyag keletkezik intenzívebben, nagyobb mennyiségben, időbelileg megelőzve a vázanyagot. Az utóbbi mikrofibrillumai valószínűleg már a matrixba ágyazódva keletkeznek polimerizáció és kristályosodás útján, mégpedig minden jel szerint azon a helyen, ahol morphológiai értelemben is megjelennek. Nem igen tarthatók fenn azok a régebbi nézetek, melyek szerint a mikrofibrillumok keletkezését megelőzően „cellulóz"-csírák jönnek létre, parányi testek formájában pl. a kloroplastisokban (FARR 1937, 1948 in TREIBER 1957).

Nem lehet kétséges, hogy ez a táj, melyben a sejtfalképződés folyamata végbemegy, szoros kapcsolatban áll a cytoplasmával, vagy annak sajátos külső állományát jelenti, melyet joggal nevezhetünk membranogén rétegnek. Erre utal az a körülmény, hogy meristematikus sejtek nem, illetve nehezen plasmolysálhatók, továbbá, hogy az elsődleges fal fehérjét tartalmaz (FREY-WYSSLING 1959; ROELOFSEN 1959). Kézenfekvőnek látszik a feltevés, hogy a cytoplasma, illetve annak membranogén rétege bizonyos fokig benyomul az elsődleges sejtfalba, azt mintegy átitatja. Az ultravékony metszetek elektronmikroszkópos vizsgálata alapján azonban eddig általában nem sikerült határozott képet kapni a membranogén rétegről, illetve a sejtfal és a cytoplasma kapcsolatáról. E sikertelenség oka valószínűen a használatos fixálószerek (osmiumtetroxid, káliumpermanganát) rovására írható, melyek nem őrzik meg a cytoplasma minden sajátos struktúráját. A fixálási módszerek tökéletesítésével lényeges előhaladás várható e téren, mint azt az újabban bevezetett glutaraldehydes eljárás is bizonyítja. *Phleum* és *Juniperus* gyökércsúcsának glutaraldehyddel fixált sejtjeiben kb. 250 Å vastagságú csövecskéket,

ún. mikrotubulusokat sikerült kimutatni a cytoplasmának a sejtfallal határos övezetében, melyek megközelítően párhuzamosan futnak a fal felületével (LEDBETTER és PORTER 1963) (11. kép). Még kérdéses, hogy a mikrotubuláris zóna mennyiben tekinthető membranogén rétegnek, de nincs kizárva, hogy aktív szerepe van a falszintézisben.



11. kép. Mikrotubulusok a cytoplasma sejtfalmenti tájában a *Juniperus* esetében, pm plasmamembrán, cw sejtfal. Ultravékony metszet elektronmikroszkópos képe, nagyítás 80 000-szeres (LEDBETTER és PORTER 1963)

Azon vélemény, mely szerint pl. az epidermissejtek és kollenchymasejtek vastagabb falában, a cytoplasmától már távolabb eső, idősebb lamellákban is történnék cellulózfibrillum szintézis — a plasmából oda diffundáló anyagokból — nem látszik elfogadhatónak. Ezzel szemben alkalmasabb objektumon, a *Nitellán* végrehajtott kísérletben világosan megállapítható volt, hogy a tápoldatból a sejtekbe jutó radioaktív hidrogén, a tricium, a sejtfalnak

belső rétegébe épült be, mely feltehetően a kísérlet közben képződött, még a külső, már előzetesen is létező falréteg nem bizonyult radioaktívnak (GREEN 1958). Membranogén réteg létezését támasztja alá a sejtfalak lamelláris szerkezete is, mert evidensnek látszik az az elgondolás, hogy minden egyes lamella egy-egy nagyobb szintetikus egység (kisebb egység a mikrofibrillum), mely hasonló helyen és körülmények között, de időbelileg elválasztva jött létre a többitől.

A sejtfal nyúlásos növekedése

A már kialakult cellulóztartalmú sejtfallamella, bár kétség kívül bizonyos mértékig plasztikus, azaz nyújtható, sőt rugalmas (elasztikus), ugyanakkor bizonyos határig merev anyagként is viselkedik, és nem képzelhető el, hogy kényszerítő hatás nélkül jelentősebb mértékben nyúljék. Eléggé általánosan elfogadott nézet szerint a kényszerítő erőhatás a vacuolumos növényi sejt ismert osmotikus működésének következménye, mely a sejtnedv révén a cytoplasma közvetítésével — belülről kifelé — hydrostatikus nyomást, ún. turgornyomást gyakorol a sejtfalra és a sejt feszes turgescensz állapotát idézi elő. A sejtek megrövidülése (a sejtfal összehúzódása) plasmolysiskor arra utal, hogy előzetesen (turgescensz állapotban) reversibilis megnyújtásnak voltak alávetve, az elasztikus deformáció határain belül. A sejtfal maradandó megnyúlása azonban csak akkor következhet be, ha annak mértéke túllépte a rugalmas deformáció (elaszticitás) határát, és irreverzibilis, plasztikus deformáció jött létre. Búzagyökér sejtjein végzett kísérletek szerint (BURSTRÖM 1942, FREY-WYSSLING 1959) a turgornyomás és a sejtfal szilárdsági viszonyai jelentősen változnak a sejt nyúlásos növekedése során. Úgy látszik, hogy a nyúlás tartama alatt a turgornyomás csökken, ugyanakkor azonban a fal rugalmassága (elaszticitása) is kisebb. Így érthető, hogy a sejt — a turgornyomás csökkenése ellenére is — jelentősen növekedik, mivel már a kisebb erő is plasztikus, azaz irreverzibilis megnyúlást idéz elő.

A sejtfal nyúlására, mint ismeretes, rendkívüli hatást gyakorolnak az auxinok, mégpedig valószínűen oly módon, hogy növelik annak plaszticitását (csökkentik szilárdságát) (SÖDING 1931). A sejtfal passzív nyúlásának mechanizmusát — a falstruktúra ismeretében — úgy képzelhetjük el, hogy a turgornyomás feszítőerejének hatására a cellulóz mikrofibrillumok egymáshoz képest elmozdulnak az alapanyagban (matrixban), amely auxinhatásra képlékennyé válik.

A növekedés ilyen módja esetén a nyúló sejtfalnak vékonyodnia kellene a felületi kiterjedése folyamán. Valóban vannak adatok arra vonatkozóan, hogy pl. a *Nitella* nagy tengelysejtjeiben a falvastagság csökken hosszanti növekedésük intenzív periódusa alatt (GREEN 1958). E vékonyodás azonban csupán átmeneti jellegű, mely még a nyúlásos növekedés tartama alatt kom-

penzálódik, sőt a fal eredeti vastagságának többszörösére gyarapodik (secunder falképzés).

Nyilvánvaló tehát, hogy a sejtfalnövekedésben az új falanyag szintézise, tehát aktív növekedés játssza a főszerepet, a passzív megnyúlás csupán lehetőséget teremt arra, hogy az új sejtfalanyag mindig nagyobb felületen képződjék s így mindig nagyobb felületű újabb lamellákat alkosson a növekedő sejt körül. A nyúlás és a sejtfalszintézis mértékéről bizonyos fogalmat alkothatunk, ha szemügyre veszünk néhány adatot a sejtek növekedését illetően. A kukorica koleoptiljében a parenchyma sejtek átmérője átlagosan 11 μ-ról 156 μ-ra (Blank és Frey-Wyssling 1941), a búza gyökerének parenchyma sejtjeiben 20 μ-ról 400 μ-ra (Burström 1942) növekszik. A zabkoleoptil epidermiszsejtjeinek hosszúsága 13 μ-ról 2000 μ-ra (Avery és Burkholder 1936), a gyapot magszőrének hosszúsága pedig 28 μ-ról mintegy 28 000 μ-ra emelkedik (Anderson és Kerr 1938).

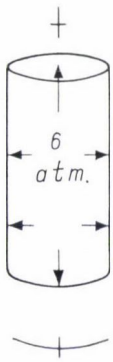
Óriási méretekben növekednek egyes algasejtek. A *Valonia* 25 μ körüli aplanospóráiból kb. 30 cm^3 űrtartalmú, megközelítően galambtojás nagyságú hólyag fejlődik (Preston 1952). A *Nitella* internodiális tengelysejtjei pedig 30 μ-ról több cm hosszú és néhány tized mm átmérőjű hengerekké nyúlnak. Tekintetbe véve még azt is, hogy az óriási mértékű felületi növekedés mellett a falvastagság is többszörösére, sőt sokszorosára gyarapodik, számolnunk kell azzal, hogy a növekedő sejtben rendkívül intenzív falanyag szintézis történik, mely a sejtfejlődés ezen állapotának szénhidrátanyagcseréjét különösképpen jellemzi.

A sejtfalnövekedés mechanizmusa és a mikrofibrillum-orientáció

A sejtfal növekedése kvantitatíve felületi kiterjedésben és vastagodásban nyilvánul meg, kvalitatíve pedig — többek között — jellegzetes sejtforma kialakulásához vezet, fénymikroszkópos nagyságrendben. Ultrastrukturális szinten a növekedés cellulóz mikrofibrillumok állandó szintézisével jár együtt, melyek jellemzően rendeződve (orientálódva) újabb és újabb lamellákat alakítanak ki. Így, ha a sejtfalnövekedés folyamatát kívánjuk megérteni, magyarázatot kell keresnünk mind a sejtalak, mind pedig a mikrofibrillum-orientáció létrejöttére. Megjegyzendő, hogy szövetek esetében a sejt alakjának képződését többnyire nagymértékben befolyásolja a szomszéd sejtek nyomása. A kérdés tanulmányozására tehát olyan sejtek alkalmasak, melyek részben vagy egészben szabadon fejlődnek, így pl. szőrök vagy teleptestű és egysejtű növények.

A sejtek belsejében uralkodó hydrostatikus nyomás, mely a sejtnyúlás közvetlen megindítója, minden irányban egyforma erővel hat, ezért csak turgornyomásra csupán a gömb alakú sejtek kialakulását lehet visszavezetni. A sejtek többsége azonban, növekedése során nem gömb alakot nyer, hanem gyakran pl. hengeres lesz, mint amilyenek a gyökérszőrök, pollentömlők, tracheák

vagy a *Nitella* óriási internodiális tengelysejtjei. Növekedéskor az ilyen sejtek főképpen hossztengelyük irányában terjednek ki, arra merőlegesen sokkal kevésbé. Pl. *Nitella* tengelysejtjeit eredeti hosszuknak több ezerszeresére, szélességüknek csupán kb. tízszeresére nőnek meg (GREEN 1954, 1958). Fontos megállapítás, hogy a sejtek falában a mikrofibrillumok eredetileg (az újabb lamellákban) körkörösen helyezkednek el az oldalfalban, tehát merőlegesen (tranzverzálisan) a sejt hossztengelyének irányára (REOLOFSEN és HOUWINK 1951, 1953; GREEN 1958; WARDROP 1956a—b; PROBINE és PRESTON 1961, 1962). A tranzverzális falszerkezet jelentősége az ilyen növekedésben kitűnik abból, hogy magasabb koncentrációjú auxin hatásának kitett *Nitella* sejtek,



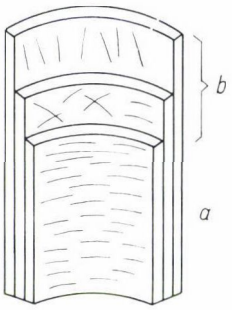
12. kép. A minden irányban egyforma (pl. 6 atm.) erővel ható hidrosztatikus nyomás a hengeres sejt falában haránt irányban okozza a legnagyobb tangenciális feszülést (alsó jel) és hosszanti irányban hozza létre a legnagyobb megnyúlást (felső jel) (GREEN 1963)

melyek falában a mikrofibrillumok lefutása orientálatlanná vált, minden irányban egyenlően növekedtek és gömbszerűek lettek. Feltehetően az auxin plaszticitást növelő befolyása tette lehetetlenné, hogy a mikrofibrillumok a normális rendezett orientációjukban maradjanak (DIEHL et al 1939; GREEN 1963).

Ahhoz, hogy a tranzverzális mikrofibrillum-orientáció szerepét a falnövekedésben megérthessük, tisztában kell lennünk a hengeres sejtek falában kialakult erőviszonyokkal (12. kép). Egy hengeres edény belsejében fellépő hydrostatikus nyomás — bár radiálisan minden irányban egyenlő nagyságú — mégis a falban, tangenciálisan, különböző irányokban más-más mértékű feszülést idéz elő. A maximális feszülés tranzverzális irányban hat az oldalfalban, a minimális — mely az előzőnek fele — pedig hosszanti irányban. Az elmondottak vonatkoznak pl. a *Nitella* tengelysejtjére is. Így megállapíthatjuk, hogy a szóban forgó sejtfal a legnagyobb ellenállást, a legnagyobb feszítőerő irányában fejti ki, mivel a sejt átmérője növekszik legkevésbé. A legkisebb ellenállást viszont erre merőlegesen, a feszítőerő kisebb kompo-

nensével egyező irányban tanúsítja, mivel a maximális deformáció a sejt hossztengelyével párhuzamosan történik, azaz a sejt hosszában nyúlik meg legjobban (PRESTON 1963; GREEN 1963).

Az elmondottakkal jól egyeznek a hengeres sejtek falszerkezetének kialakulására vonatkozóan tett korábbi megállapítások, melyek szerint a belső (legfiatalabb) lamellákban még kifejezetten tranzverzális a mikrofibrillumok orientációja, a külsőbb (idősebb) lamellákban ez már mindinkább rendezetlenné válik, a legkülső (legidősebb) lamellákban pedig a mikrofibrillumok iránya gyakran többé-kevésbé megközelíti a sejt hossztengelyét (13. kép). A mikrofibrillum-orientáció megváltozása a lamellákban a nyúlásos növekedés következményeként fellépő passzív átrendeződéssel magyarázható és úgy



13. kép. A mikrofibrillum-irány átrendeződése a hengeres sejt falának lamelláiban a növekedés során: „a" eredeti mikrofibrillum-orientáció, „b" a mikrofibrillumok különböző mértékű átrendeződése az idősebb lamellákban (GREEN 1963)

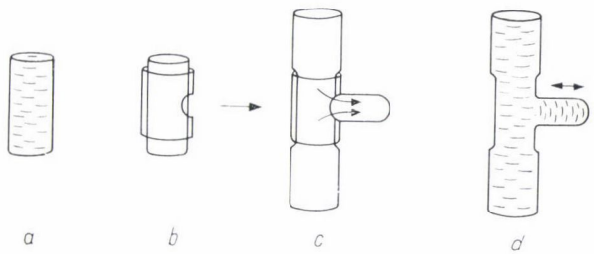
tűnik, hogy a falnövekedésnek ez a módja („multi net growth") eléggé általános főként a hengeres sejtekben (ROELOFSEN 1958, 1959; GREEN 1960, 1963).

Fentiek alapján a falszerkezet alapvető sajátságai — ti. hogy képlékeny alapanyagba ágyazott szilárd, fibrilláris vázanyagból áll, és hogy a vázelemek (mikrofibrillumok) tranzverzálisan helyezkednek el — jól összhangba hozható a növekedés módjával. A növekedés mechanizmusának alapvető mozzanata abban keresendő, hogy a plasztikus alapanyagba ágyazott mikrofibrillumok a falban fellépő feszültségek hatására egymástól oldalirányban (tehát a mikrofibrillumok hossztengelyére merőleges és a sejt hossztengelyével párhuzamos irányban) eltávolodnak, sőt eredeti orientációjukból is kimozdulnak.

A tranzverzális mikrofibrillum-orientáció kialakulásának körülményére bizonyos felvilágosítást adott az alábbi kísérleti eredmény (GREEN és CHEN 1960): ha fejlődő *Nitella* tengelysejtet szűk csőben tartottak, melynek oldalán kis nyílás volt, akkor a sejt oldala a nyíláson keresztül kesztyűujjszerűen kidudorodott, majd mind hosszabb tömlővé nőtt, merőlegesen a sejt eredeti tengelyére. Az oldaltömlő falában a mikrofibrillumok körkörösen (tranzverzálisan) futottak, azaz ugyancsak merőlegesen a hossznövekedés irányára (14. kép). A viszonyok tehát ugyanúgy alakultak mint a sejt eredeti, normális

helyzetben növekedő részletében. Ilyen módon levonhatjuk a következtetést, hogy ez esetben a mikrofibrillum-orientáció kialakulása függ a falban uralkodó feszültségi viszonyoktól, oly értelemben, hogy a mikrofibrillumok a maximális nyúlás irányára merőlegesen helyezkednek el.

Fenti — tetszetősnek tűnő — megállapítás általánosítását korlátozza az a körülmény, hogy számos sejttípus esetében, ugyanazon sejtfalban, a mikrofibrillumok már eleve többféle orientációban jönnek létre, sőt ez lamelláról lamellára szabályszerűen váltakozhat. Így pl. a *Cladophora* hengeres sejtjeiben két mikrofibrillum irány ismerhető fel, az egyik megközelítően párhuzamos

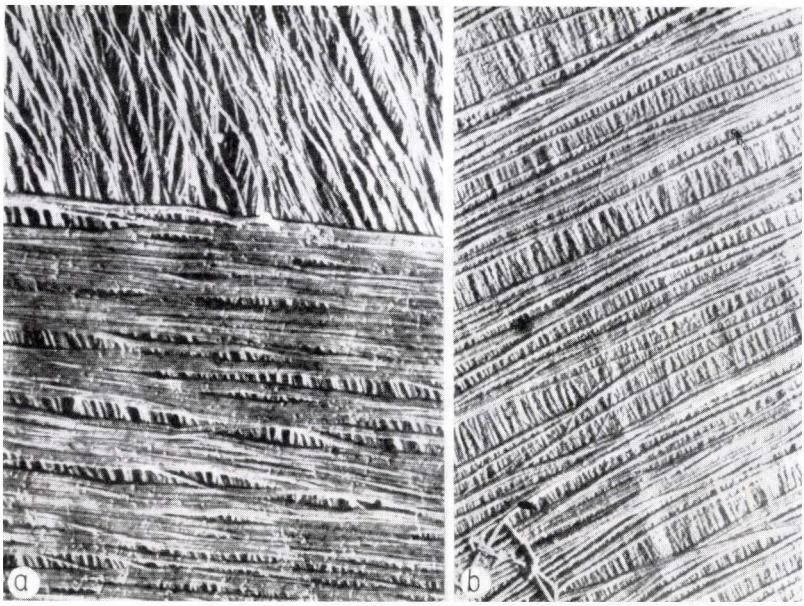


14. kép. A hengeres sejt (a) oldalnyílással ellátott hüvelybe történt helyezés után (b) oldal irányban tömlőt fejleszt (c és d), melyben a mikrofibrillum-orientáció a feszültségi viszonyoknak megfelelően alakul (GREEN 1963)

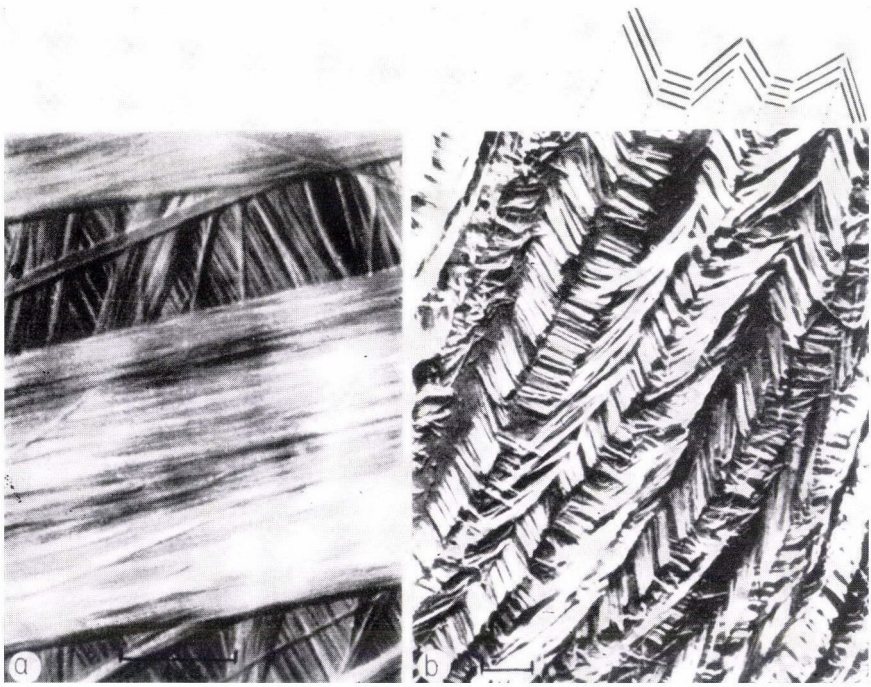
a sejt hossztengelyével, a másik tranzverzális (15. kép). A *Valonia* nagy hólyagszerű sejtjének falában lamellánként változik a mikrofibrillumok lefutása kb. 120 fokos szöggel, így összesen három fibrillum-orientáció állapítható meg és minden negyedik lamella mikrofibrillumai azonos irányúak (16. kép) (STEWARD és MÜHLETHALER 1953). Szöveti sejtek közül elsősorban a rostokra jellemző a mikrofibrillum-orientáció rétegenkénti változása, a másodlagos sejtfalban.

Bár a hengeres *Cladophora* sejtben levő két mikrofibrillum irány, és a *Valonia* gömbszerű sejtjében fennálló három mikrofibrillum irány bizonyos értelemben összhangban állónak látszik a kérdéses sejtek formájával, illetve annak kialakulásával, mégis, ha az újonnan keletkező mikrofibrillumok rendeződését az említett esetekben is a sejtfalban fellépő feszítőerőkre próbáljuk visszavezetni, úgy nagy nehézségekbe ütközünk, illetve kénytelenek vagyunk ahhoz a nehezen elképzelhető feltevéshez folyamodni, hogy a falban uralkodó feszültségi viszonyok, a növekedés során, sűrűn, sőt szabályosan változnak.

Ellentmond az előbbi feltételezésnek az a körülmény is, hogy a *Cladophora* fonál aplikális sejtjeinek félgömb alakú csúcsában, ahol a cellulóz szintézis és növekedés intenzíven folyik, keresztezett mikrofibrillum-elrendeződés jön létre, holott a falban uralkodó feszültségi viszonyok e helyen — a félgömb alak következtében — a különböző irányokban feltehetően egyformák (FREY és PRESTON 1961; PRESTON 1963).



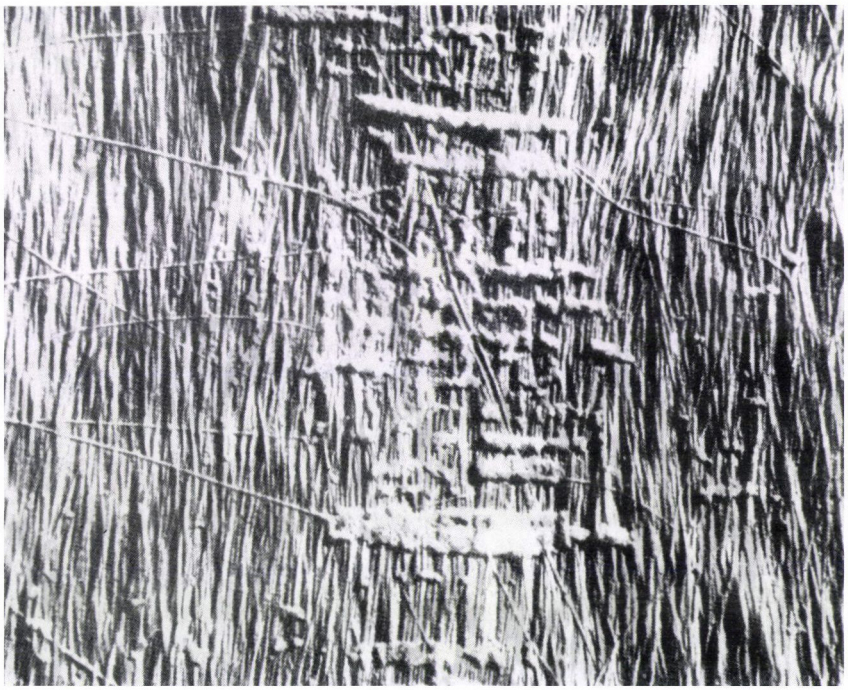
15. kép. Keresztezett mikrofibrillum-orientáció a *Cladophora prolifera* (a) és a *Cladophora ruprestris* (b) sejtfalában. Elektronmikroszkópos felvétel, nagyítás 15 000-szeres (FREI és PRESTON 1961)



16. kép. A Valonia másodlagos sejtfalának elektronmikroszkópos képe felülnézetben (a) és keresztmetszetben (b) (STEWARD és MÜHLETHALER 1953)

A cytoplasma szerepe a mikrofibrillum-orientációban

A *Chaetomorpha* sejtjeiben, ahol ugyancsak keresztezett fibrilláció van, behatóan tanulmányozták elektronmikroszkóppal a falképződést (FREY és PRESTON 1961; PRESTON 1963). Megállapították, hogy az új lamella mikrofibrillumai — egymástól még távol és az előző lamella mikrofibrillum irányára közel merőlegesen — már akkor kezdenek megjelenni, amikor az előző lamella szintézise még valószínűen nem fejeződött be teljesen s így feltehetően még

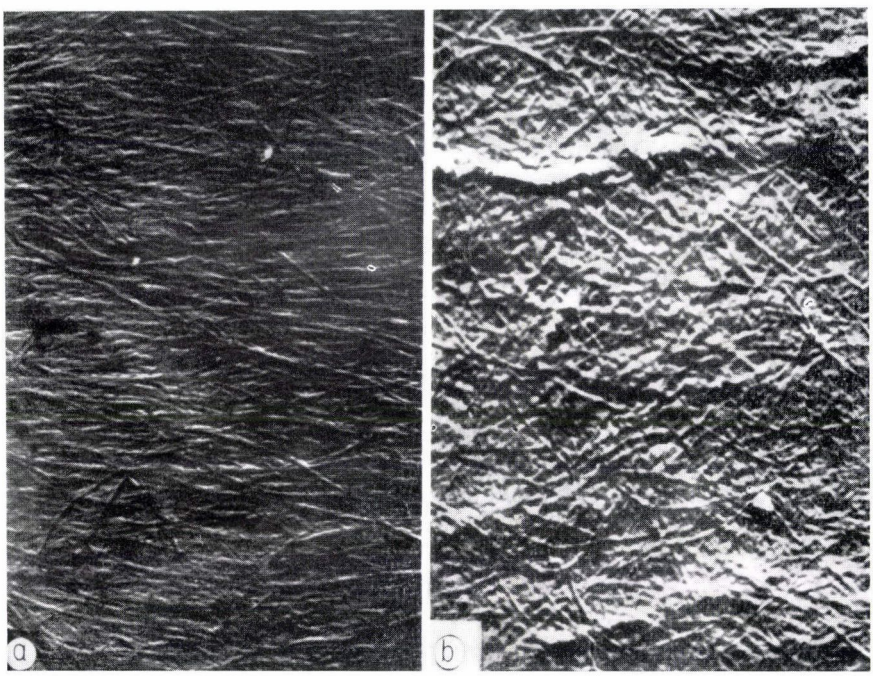


17. kép. Orientáltan elhelyezkedő plasmagranulumok és képződő mikrofibrillumok a *Chaetomorpha* sejtfalának belső oldalán. Elektronmikroszkópos felvétel, nagyítás 25 000-szeres (FREI és PRESTON 1961.)

a korábbi feszültségi viszonyok állnak fenn. Olyan sejtek esetében, melyeket — közvetlenül a rögzítés előtt — plasmolysáltak, azaz a cytoplasmát a sejtfalról leválasztották, a keletkező lamella helyén plasmagranulumokat észleltek, melyek az új mikrofibrillumok irányának megfelelően párhuzamos sorokba rendeződtek (17. ábra). E megfigyelésből arra következtettek, hogy a cytoplasma rendkívül szoros, kifejezetten anyagi összefüggésben van a képződő fallamellával. Feltételezés szerint a falhoz tapadt plasmamaradványok helyén történik a cellulóz-szintézis, sőt a plasmagranulumok orientált elhelyezkedése annak a cytoplasmatikus organizációnak a megnyilvánulása lenne, amelyik

a mikrofibrillumok rendezett szintézisét végezné, s így a falstruktúrában megnyilvánuló, szabályosan váltakozó orientációért felelős.

A cytoplasmának a mikrofibrillum-orientáció kialakításában betöltött szerepére más oldalról *Chara*-n (DELAY 1957) és *Nitellá*-n (GREEN 1962, 1963) végzett kísérleti eredmények utalnak. Kolhicines tápoldatban tartott fiatal növényeknél háttérbe szorult a növekedés normális anizotrópiája és a szokott hosszú, hengeres sejtek helyett megközelítően gömb alakú sejtek fejlődtek.

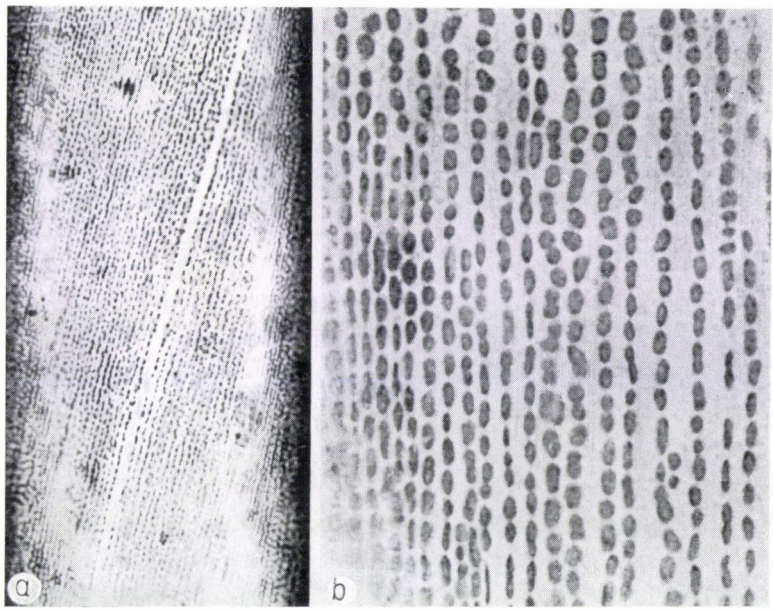


18. kép. A *Nitella* belső sejtfalrétegének elektronmikroszkópos képe: „a" normális sejt, haránt irányban rendezett mikrofibrillumokkal, „b" colchicinnel kezelt sejt, rendezetlen mikrofibrillumokkal (GREEN 1963.)

A sejtek falstruktúrája tükrözte a növekedés és a létrejött sejtfalak izotrópiáját, amennyiben benne a mikrofibrillumok rendezetlenül helyezkedtek el, szemben a normális hengeres sejt tranzverzális fibrilláltságával (18. ábra). Ha a kolhicines tápoldatban fejlődő sejteket szűk csőbe bújtatták — mint erről előzőekben egy másik kísérlet ismertetésekor már szó volt — akkor bár a kényszerítő hatás következtében hosszú henger alakú sejt keletkezett, a fal mikrofibrillumai azonban az anizotrop feszültségi viszonyok és a hosszanti irányított növekedés ellenére is rendezetlenül helyezkedtek el.

Főként az utóbbi kísérlet eredménye arra vall, hogy a mikrofibrillum-orientáció kialakítását nem kizárólagosan a sejtfalban uralkodó, tangenciálisan

ható feszítőerők szabják meg, sőt ebben valószínű nem is elsődleges szerepet játszanak. Tekintetbe véve a colchicinnek a cytoplasmatikus eredetű magorsóra gyakorolt ismert befolyását, jogos arra gondolni, hogy az említett kísérletekben a mikrofibrillumok szabályos rendeződése azért nem jöhetett létre, mert a colchicin gátolta — egy még nem ismert — plasmastruktúra kialakulását a cytoplasma felületén (a membranogén rétegben), amely a mikrofibrillumok orientálását végezné.

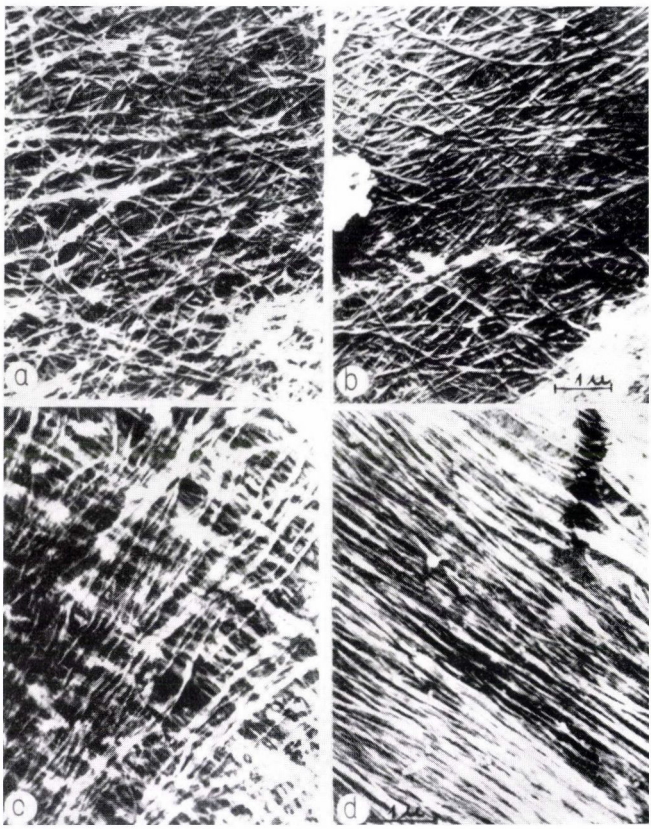


19. kép. Sorokba rendeződött chloroplastisok a *Nitella* tengelysejtjében (fénymikroszkópos felvételek) „a" tengelysejt-részlet kisebb nagyításban. A chloroplastis sorok kissé ferdén, valóságban meredek csavarvonalban húzódnak. „b" részlet erősebb nagyításban (GREEN 1963)

Az eddigi megfigyelések és kísérletek eredményeit tekintetbe véve GREEN (1963) feltételezi, hogy a cytoplasma membranogén rétegében fehérje természetű, hosszúkás elemekből álló, colchicinre érzékeny szubmikroszkópos struktúra van, mely elsődlegesen lenne felelős a keletkező mikrofibrillumok irányított elrendezéséért. A falban fellépő feszítőerők valószínűen e feltételezett plasmastruktúra módosításán keresztül hatnának a mikrofibrillum orientációra. Az a körülmény, hogy a *Chara* és *Nitella* sejtek falmenti plasmarétegében nem észlelhető mozgás (a vakuolum melletti plasmaállomány élénken áramlik), továbbá, hogy e cytoplasmarétegben levő kloroplastisok sorokba rendeződve, irányítottan helyezkednek el, alátámasztani látszanak ezt a hipotézist (19. kép). Az előzőekben már említett mikrotubulusok felfedezése (LEDBETTER és PORTER 1963) eddig ismeretlen struktúrát tárt fel éppen a cytoplasma membra-

nogén rétegében, azonban e struktúra működése még ismeretlen. Újabb megfigyelések szerint ott jelenik meg, ahol a sejtben annak organizációjával kapcsolatos mozgások lépnek fel (KEITH, PORTER, MYRON, LEDBETTER és BADENHAUSEN 1964).

Keresztezett falstruktúrák esetében — ha fenti elképzeléshez tartjuk magunkat — kénytelenek vagyunk azt is elfogadni, hogy az irányító szerepet

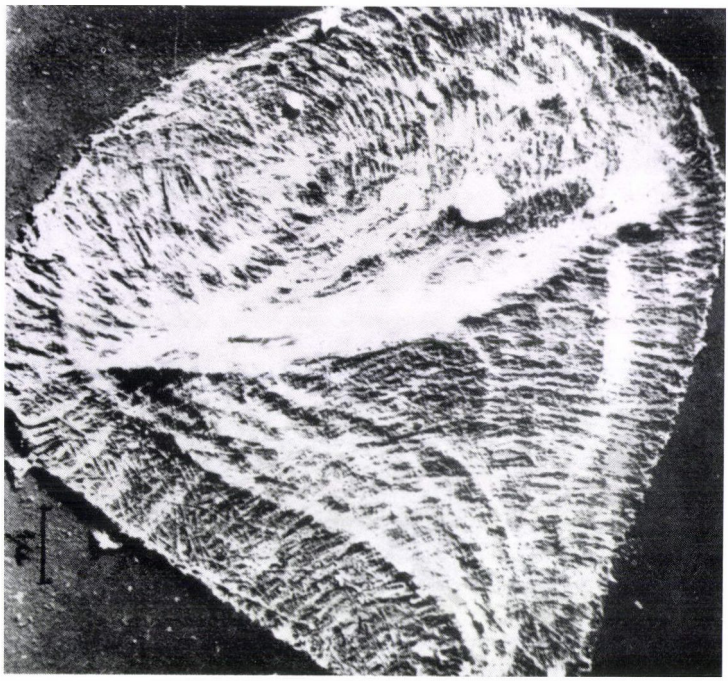


20. kép. Sejtfalképződés a *Valonia* spóráján. Az első sejtfal-lamellában a mikrofibrillumok még rendezetlenül helyezkednek el (a). Az ezután képződő újabb lamellák (b, c,d) mindinkább rendezett felépítésűek (STEWARD és MÜHLETHALER 1953)

betöltő plasma-elemek orientációja időről időre változik, amire magyarázatot viszont még nem tudunk adni. A cytoplasma falstruktúra-alakító működésének változásáról és ezzel együtt a membranogén réteg szerkezeti változásáról tanúskodnak azok a megfigyelések, melyeket fejlődő sejteken végeztek (STEWARD és MÜHLETHALER 1953; NICOLAI 1957). A *Valonia* és *Chaetomorpha* még sejtfalnélküli spóráin megtelepedés után először olyan fallamella képződik, melyben a mikrofibrillumok rendezetlenül vannak. Az elsőt rövidesen olyan

lamellák követik, melyekben már rendezett szerkezet látható, váltakozó irányokkal (20., 21. kép).

A sejtfal fejlődésének még számos nagyrészt nyitott kérdése van. Valószínűen nem tévedünk azonban, ha azt állítjuk, hogy a sejtfal anyagainak szintézisében, a vázanyag orientálásában, a fal növekedésében és differenciálódásában a cytoplasma membranogén rétege, illetve annak sajátos ultrastruktúrája alapvető tényező.



21. kép. Orientált mikrofibrillum-képződés a *Chaetomorpha* spórájában (NICOLAI 1957)

IRODALOM

ANDERSON, D. B.: Über die Struktur der Collenchymzellwand auf Grund mikrochemischer Untersuchungen. S. B. Akad. Wiss, Wien, Abt. 1. **136,** 429 (1927).

ASTBURY, W. T.: Fundamentals of fibre structure, London (1933).

ASTBURY, W. T.—PRESTON, R. D.: The structure of the cell wall in some species of the filamentous green alga Chladophora. Proc. roy. Soc. Lond. B. **129,** 54 (1940).

AVERY, G. S. and P. R. BURKHOLDER: Polarized growth and cell studies on the Avena coleoptile, phytohormone test object. Bull. Torrey bot. Club **63,** 1 (1936).

BLANK, F.: The chemical composition of the cell walls of dermatophytes, Biochim. biophys. Acta **10,** 110 (1953).

BURSTRÖM, H.: Die osmotischen Verhältnisse während des Streckungswachstums der Wurzel. Ann. agric. Coll. Sweden **10,** 113 (1942).

COLVIN, J. R., S. T. BAYLEY and M. BEER: The growth of cellulose microfibrils from Acetobacter xylinum. Biochim, biophys. Acta **23,** 652 (1957).

DIEHL, J. M., CORTER, C. J., VAN ITERSON, G. and KLEINHOONTE, A.: The influence of growth harmone on hypocotyls of Helianthus and the structure of the cell walls, Rec. trav. botan. neerl **36,** 709 (1939).

FREY-WYSSLING, A.: Über die röntgenometrische Vermessung der submikroskopischen Räume in Gerüstsubstanzen. Protoplasma **27,** 372 (1937).

FREY-WYSSLING, A.: On the crystal structure of cellulose. Biochem. biophys. Acta **18,** 166 (1955).

FREY-WYSSLING, A.: The fine structure of cellulose microfibrils Science **119,** 80 (1954).

FREY-WYSSLING, A.: Macromolecules in cell structure, Cambridge (1957).

FREY-WYSSLING, A.: Die pflanzliche Zellwand. Berlin—Göttingen—Heidelberg (1959).

FREY-WYSSLING, A.—MÜHLETHALER, K.—WYCKOFF, R. W. G.: Mikrofibrillenbau der pflanzlichen Zellwände, Experientia **4,** 475 (1948).

FREI, E. and PRESTON, R. D.: Cell wall organization and wall growth in the filamentous green Cladophora and Chaetomoropha. I. The basic structure and its formation, Proc. Roy. Soc. (London) **B154,** 70 (1961).

GREEN, P. B.: The spiral growth pattern of the cell wall in Nitella axillaris, Amer. J. Bot. **41,** 403 (1954).

GREEN, P. B.: Structural characteristics of developing Nitella internodal cell walls. J. biophys. biochem. Cytol. **4,** 505 (1958).

GREEN, P. B.: Concerning the site of the addition of new wall substances to the elongating Nitella cell wall. Am. J. Botany **45,** 111 (1958).

GREEN, P. B.: Multinet growth in the cell wall of Nitella. J. Biophys. Biochem. Cytol, **7,** 289 (1960).

GREEN, P. B.: Cell expansion. In "Physiology and Biochemistry of Algae". (R. A. Lewin ed) 625, Academic Press New-York (1962).

GREEN, P. B. and CHEN, J.: Concerning the role of wall stresses in the elongation of the Nitella zell Z. wiss. Mikroskop **64,** 48 2 (1960).

GREEN, P. B.: On mechanismus of elongation Cytodifferencial and macromolecular synthesis, Academic Press New-York 203 (1963).

HERZOG, R. O.—JANCKE, W.: Das Röntgendiagramm der Zellulose, Z. phys, Chem. A. **139,** 235 (1928).

HESTRIN, S. and M. SCHRAMM: Synthesis of cellulose by Acetobacter xylinum. Biochem. J. **58,** 345 (1954).

KEITH, R. et al.: The microtubule in cell fine structure. Electron Microscopy Conference, Prague 119 B (1964).

LEDBETTER, M. C.—PORTER, K. R.: A "Microtubule" in plant cell fine structure. The Journal of Cell Biology **19,** 239 (1963).

MARX, M.: Viskosimetrische Molekulargewichtbestimmung von Cellulose in Kupfer. Aethylendiamin. Makromol. Chem. **16,** 157 (1955).

MEYER, K. H.—MARK, H.: Der Aufbau der hochpolymeren organischen Naturstoffe. Leipzig (1930).

MEYER, K. H.—MISCH, L.: Positions des atomes dans le nouveau modèle spatial de la cellulose. Helv. chim. Acta, **20,** 232 (1937).

MÜHLETHALER, K.: Electron microscopic study of the slime mold Distyostelium discoideum. Amer. Jour. Bot. **43,** 673 (1956).

MÜHLETHALER, K.: Die Feinstruktur der Zellulosemikrofibrillen. Beiheft zu den Zeitschr. des Schweiz. Forstv. **30,** 55 (1960).

MÜHLETHALER, K.: Electron micrographs of plant fibers, Biochim. biophys. Acta **3,** 15 (1949).

NÄGELI, G.: Über den inneren Bau vegetabilischer Zellmembranen. S. B. bayer. Akad. Wiss. **1,** 282. **2,** 151 (1864).

ORDIN, L.—CLELAND, R.—BONNER, J.: Influence of auxin on cell-wall metabolism, Proc. Nat. Acad. Sci. (VS) **41,** 1023 (1955).

PRESTON, R. D. (b): Fibrillar units in the structure of native cellulose, Discus. Faraday Soc. **11,** 165 (1952).

PRESTON, R. D.: The Biophysics of wall structure and cell growth, In Vistas in Botany Vol. **3,** 255, London, New-York (1963).

PRESTON, R. D.—NICOLAI, E.—REED, R.—MILLARD, A.: An electron microscope study of cellulose in the wall of Valonia ventricosa. Nature (Lond.) **162,** 665 (1948).

PROBINE, M. C. and PRESTON, R. D.: Cell growth and the structure and mechanical properties of the wall in internodal cells of Nitella opaca. I. Wall structure and growth. J. Exptl. Botany **12,** 261 (1961).

PROBINE, M. C. and PRESTON, R. D.: Cell growth and the structure and mechanical properties of the wall in internodal cells of Nitella opaca, II. Mechanical properties of the walls. J. Exptl. **13,** 111 (1962).

RANBY, B. G.: The fine structure of cellulose fibrils. In: Fundamental aspects of fibres and their treatment for papermaking. Cambridge (1957).

ROELOFSEN, P. A.: Cell-wall structure as related tu surface growth. Acta Botan. Neerl. **7,** 77 (1958).

ROELOFSEN, P. A. and A. L. HOUWINK: Cell structure of staminal hairs of Tradescantia virginica and its relation with growth. Protoplasma **4p,** 1 (1951).

ROELOFSEN, P. A. and A. L. HOUWINK: Architecture and growth the primary cell wall in some plant hairs and in the Phycomyces sporangiophore. Acta bot. neerl **2,** 218 (1953).

SCHMITT, F. O.: Interaction properties of elongate protein macromolecules with particular reference to collagen (tropocollagen). In Biophysical Science-A Study Program (J. L. Oncley, ed.) pp. 349 Wiley, New-York (1959).

SCHRAMM, M.: Synthesis of C^{14}-labelled cellulose by a dry cell preparation of Acetobacter xylinum. Bull. Res. Council Israel A **5,** 98 (1955).

SCHULZ, G. V.—MARK, M.: Über Molekulargewichte und Molekulargewichtsverteilungen nativer Cellulose. Makromol. Chem. **14,** 52 (1954).

SEN, M. J.—ROY, S. C.: Structures of native and mercerized celluloses. Nature (Lond.) **173,** 298 (1954).

SISSON, W. A.: Identification of cristalline cellulose in young cotton fibres by X-ray diffraction analysis. Contrib. Boyce Thompson Inst. **8,** 389 (1937).

SISSON, W. A.: The existence of mercerized cellulose and its orientation in Halicystis as indicated by X-ray diffraction analysis. Science **87,** 350 (1938)

SÖDING, H.: Wachstum und Wanddehnbarkeit bei der Haferkoleoptile. Jb. wiss. Bot. **74** 127 (1931).

SPONSLER, O. L.: Orientation of the cellulose space lattice in the cell wall. Protoplasma **12,** 241 (1931).

SPONSLER, O. L.—DORE, W. H.: The structure of ramie cellulose as derived from X-ray data. H. B. Weiser edit. Colloid Symp. Monogr. **4,** 174 (1926).

STAUDINGER, H.: Die hochmolekularen organischen Verbindungen Kautschuk und Cellulose. Berlin (1932).

STEWARD, F. C.—MÜHLETHALER, K.: The structure and development of the cell wall in the Valoniaceae. Ann. Botany, N. S. **17,** 295 (1953).

TREIBER, E.: Die Chemie der Pflanzenzellwand. Berlin—Göttingen—Heidelberg (1957).

WARDROP, A. B.: The mechanism. of surface growth in the parenchyma of Avena coleoptiles. Biochim. biophys, Acta **21,** 200 (1956a).

WARDROP, A. B.: The nature of surface growth in plant cells. Aust. J. Bot. **4,** 193 (1956(b).

ÁLLATI FOTORECEPTOROK ULTRASTRUKTÚRÁJA

RÖHLICH PÁL

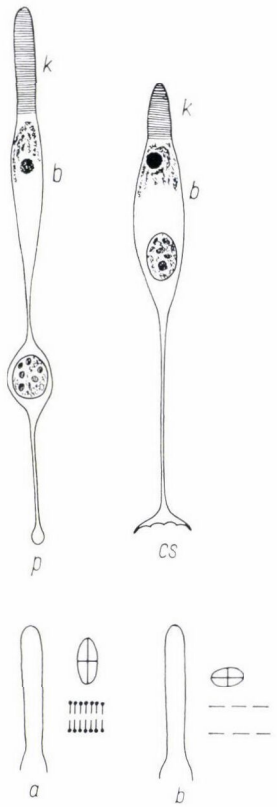
Budapesti Orvostudományi Egyetem Szövet- és Fejlődéstani Intézete

A külvilág fizikai ingereinek idegingerületté való átalakítása olyan alapvető biológiai folyamat, melynek lényegéről ma még keveset tudunk. A folyamat lényegének a feltárását — tekintve a probléma összetett voltát — csak több irányból kísérelhetjük meg. Ez a több irányú megközelítés tükröződik a receptorokról való ismereteink történetében. A kezdeti fénymikroszkópos megfigyeléseket rövidesen követték élettani, majd biokémiai és elektrofiziológiai vizsgálatok. Ezek külön-külön igen értékes adatokat szolgáltattak, azonban a jelenségnek csak egy-egy oldalát világították meg és bizonyos mértékig elszigeteltek maradtak. Annak, hogy a folyamat lényegéig hatoló, szintetikus kép nem alakulhatott ki, egyik döntő tényezője az volt, hogy a fotoreceptorok szerkezetéről csak fénymikroszkópos adatok álltak rendelkezésre. Mivel a recepció folyamata feltehetőleg molekuláris szinten zajlik le, eddigi fénymikroszkópos ismereteink nem mutatkoztak elégségesnek. A molekuláris dimenziók megközelítésére és a receptor egyre kisebb struktúregységekre való lebontására csak akkor kerülhetett sor, amikor az elektronmikroszkópia az utóbbi tíz évben lehetővé tette a fénymikroszkópos és molekuláris dimenziók közötti űr betöltését. Bár az elektronmikroszkópia az alapvető problémát egyedül nem képes megoldani, többek között azért, mert az egyik legfontosabb láncszem, az ultrastruktúrák és a molekulák közötti összefüggés már hatóterületének a határán van, mégis jelentős lépésekkel jutottunk közelebb a probléma megértéséhez. A következőkben szeretnénk röviden áttekinteni azokat az eredményeket, melyeket az elektronmikroszkópos vizsgálatok hoztak az egyik legelterjedtebb és legjelentősebb receptor, a fotoreceptor finom struktúrájára vonatkozólag.

Gerinces állatok fotoreceptorai

A retina fotoreceptor rétegét alkotó pálcikákat, csapokat már a múlt század folyamán részletesen leírták. Kiderült, hogy a pálcika és csap egy-egy megfelelő sejt (pálcika- és csapsejt) különlegesen differenciálódott perifériás nyúlványa (1. ábra). A pálcika-, illetve csapsejt hosszan megnyúlt sejt;

a sejtmagtól centrálisan a vékony, rostszerű centrális nyúlvány (pálcika-, csaprost) indul ki, hogy a következő neuronnal lépjen összeköttetésbe. A sejt perifériás nyúlványa két részre tagolódik, a kül- és beltagra. A kültag alakja adott támpontot a kétféle fotoreceptorsejt elkülönítésére: a pálcika esetében a kültag hosszú, hengerded alakú, a csap kültagja ezzel szemben rövid és kúpos. Már korábban is az a vélemény alakult ki, hogy a kültag felel meg a sejt spe-



1. ábra. Pálcika (p) és csap (cs) fénymikroszkópos vázlata. k kültag, b beltag. Polarizációs mikroszkópban a fixálatlan pálcika (a) a pálcika hossztengelyéhez viszonyítva pozitív kettőstörést mutat (lipidek!), lipoidkioldás után (b) ez ellenkező irányúvá válik (fehérje)

ciális fotoreceptor struktúrájának. Ezt az elképzelést erősítette többek között a kültagon megfigyelt jellegzetes differenciálódás. Megfigyelték például, hogy a kültagon gyakran harántcsíkolat észlelhető, sőt egyes fixálók hatására a kültag harántkorongokra esett szét. Ugyancsak ilyen lemezes szerkezetre lehetett következtetni a polarizációs mikroszkópos vizsgálatok alapján. A nem fixált, még lipoidokat tartalmazó pálcika-kültag igen erős kettőstörést mutatott, ahol a kettőstörés nagyobbik komponensének az iránya megegyezett a pálcika nossztengelyével (1. ábra). A lipoidok kioldása után ez az anizotrópia eltűnt

és egy ellenkező irányú gyenge kettőstörésbe ment át. W. J. SCHMIDT (1934) ennek alapján azt a következtetést vonta le, hogy a pálcika kültagjában nagy mennyiségű lipoidmolekula foglal helyet (ezt egyébként hisztokémiai és biokémiai vizsgálatok is bizonyították), melyek a kültag irányára merőleges irányú rétegekbe vannak beépítve, mégpedig úgy, hogy a hosszúkás lipoidmolekulák a rétegre merőleges irányban állanak. A lipoid kioldása után visszamaradó kettőstörésért a rétegek között, azok síkjával párhuzamosan futó fehérjeláncok felelősek. Ez a szerkezeti elv végeredményben hasonlít a sejthártyáról alkotott eddigi elképzeléseinkhez, ahol két vékony fehérjeréteg között egy bimolekuláris lipoidréteget feltételezünk.

Az elektronmikroszkópos vizsgálatok a kültagnak ezt a feltételezett harántlemezes struktúráját tökéletesen igazolták. A negyvenes évek végén SJÖSTRAND a harántlemezeket izolálta és megfigyelte az elektronmikroszkópban. Néhány évvel később az ultravékony metszési technika kialakulása idején a pálcikákból és csapokból készült hosszmetszeteken a lemezek finomabb szerkezetét, méreteit és a sejthártyához való viszonyát is sikerült tisztázni (SJÖSTRAND 1953).

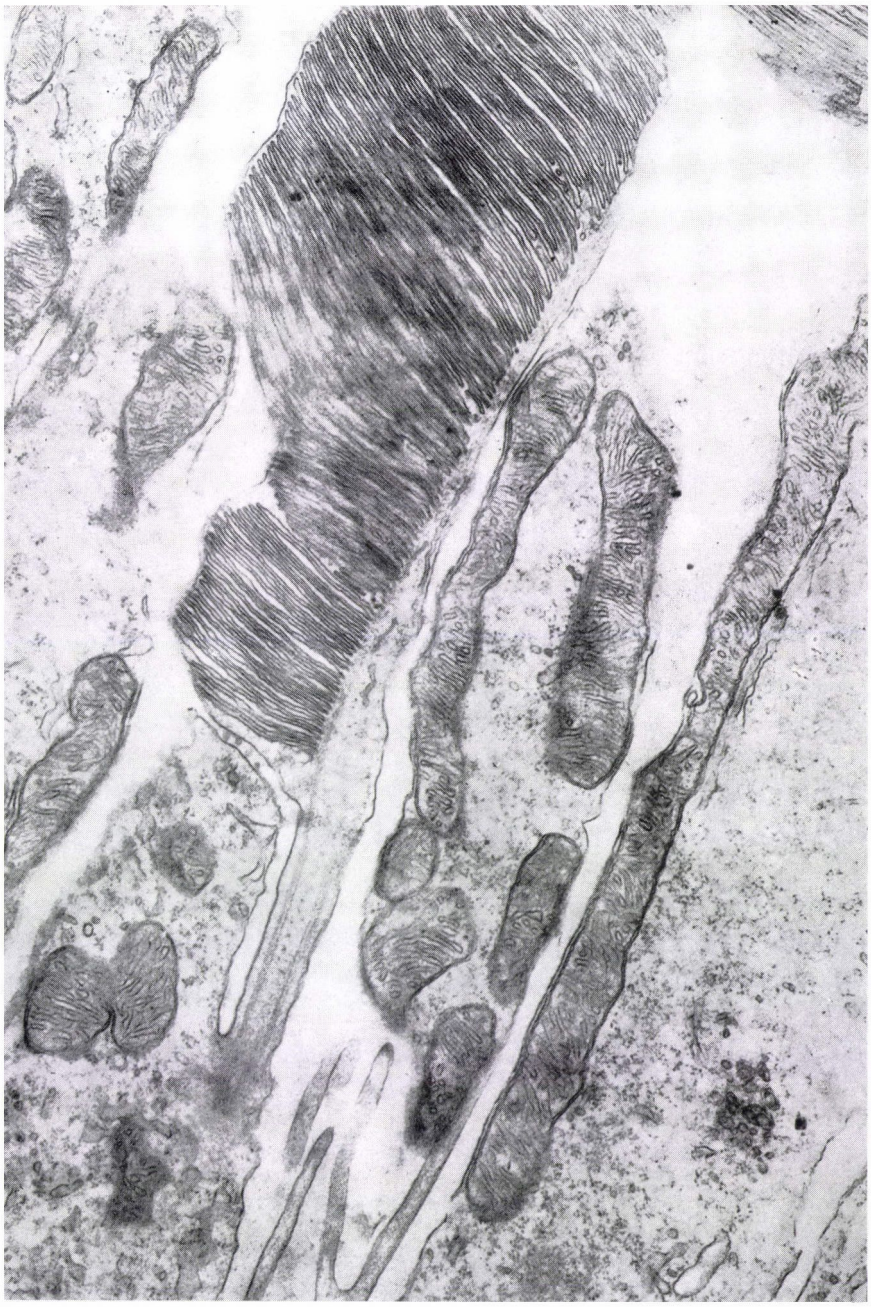
A *pálcikák* kültagjának, bár a fajok között kisebb eltérések mutatkoznak, lényegében azonos az ultrastruktúrája (részletes irodalmat l. NILSSON 1964). A pálcika olyan hengerded sejtnyúlvány, melyet minden oldalról folytonos sejthártya borít be. A nyúlvány cytoplasmájában találjuk meg a fentebb említett lemezeket, melyek tulajdonképpen inkább lapos vakuolumoknak foghatók fel (2, 3, 5. ábra). Egy-egy ilyen lemezt két párhuzamosan futó, kb. 50 Å széles sötét membrán alkot, mely a szélén átmegy egymásba; a két réteg közötti tér kb. 30—40 Å széles. Egy-egy ilyen lapos vakuolum, melyet általában korongnak neveznek, lapjáról nézve többnyire lebenyezett, a szélről sugárirányban a középpont felé futó bevágások (fissurák) következtében. Míg a kétéltűekben a bevágások száma elég tekintélyes, az emlősökben általában csak egy fissura található. A korongok kb. 150 Å távolságra vannak egymástól, egy-egy pálcikában számuk az ezret is meghaladhatja. Eddigi megfigyelések szerint a korongok a sejthártyával nem érintkeznek, attól egy vékony cytoplasmaréteg választja el őket.

A *csapok* kültagjának szerkezete az előbbi szerkezettől kissé különbözik (5. ábra). A lényeges különbség abban nyilvánul meg, hogy a lapos vakuolumok nem zártak, hanem kinyílnak a csap felszínére. Így nem is tekinthetők vakuolumoknak, hanem inkább mint a sejthártya lapos betüremkedései foghatók fel. A betüremkedések között fekvő cytoplasmaréteg vastagsága 200 Å körül van és így egy-egy csapban a betüremkedések száma mindig kevesebb, mint a pálcika korongjainak a száma.

Az előbbiekből nyilvánvaló, hogy a kültag felépítése a membránfelület óriási megnövekedéséhez vezet. Így például a *Necturus* csapja esetében BROWN, GIBBONS és WALD (1963) végzett pontos számításokat. Egyetlen



2. ábra. Átnézeti elektronmikroszkópos felvétel patkány retina fotoreceptor rétegéből. A sötét hosszanti képletek a pálcikák kültagjának felel meg, melyet egy vékony összekötő darab kapcsol a pálcikák beltagjához. Figyeljük meg, hogy a hosszú mitochondriumok a beltagban közvetlenül a sejthártya alatt helyezkednek el



3. ábra. Pálcika kültagjának finomabb szerkezete. Jól látható a kültag lemezes szerkezete, mely igen erősen lelapult vakuolumok egymásrarakódásából adódik. Jól látható a kültagot a beltaggal összekötő, csilló jellegű nyúlvány, benne a csillófilamentumokkal és a bazális testtel

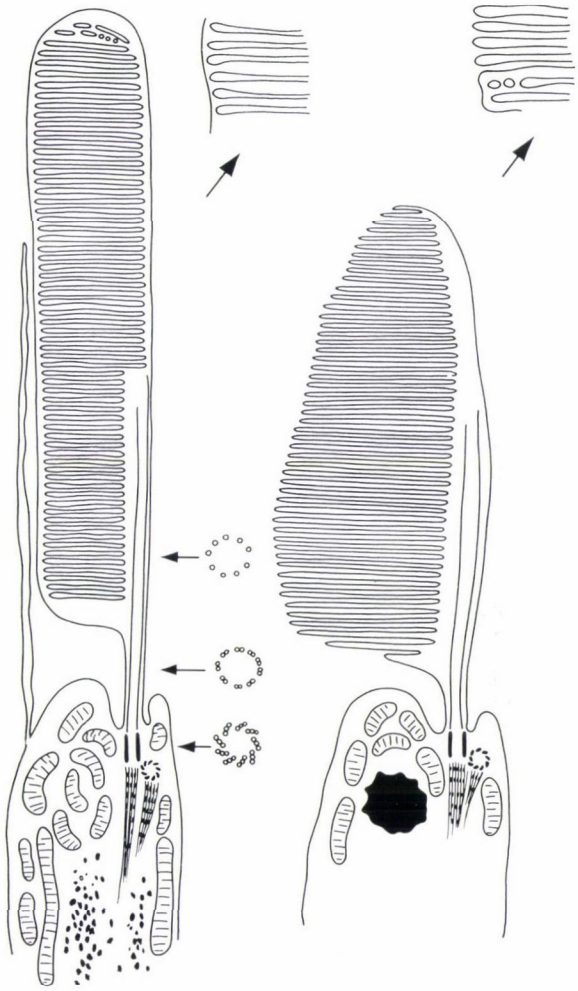
korong területe 113 μ^2-nak adódott, mivel azonban egy vakuolumban két párhuzamos membrán van, a membránfelület kb. 226 μ^2. Egyetlen pálcika kültagban 1100 korongot figyelembe véve, az összterület 248 600 μ^2 = $\sim$0,25 mm^2. Ez a pálcika-kültag-keresztmetszetének több mint kétezerszeres növekedését jelenti.



4. ábra. Összekötő darab és a beltag felső részlete. Figyeljük meg a két centriolumot, a csilló gyökeret és a csillófilamentumokat

Az elektronmikroszkópos vizsgálat szerint (3, 4, 5. ábra) a kültagot a beltaghoz egy rövid, keskeny összekötő darab kapcsolja hozzá. Az összekötő darab struktúrája rendkívül hasonló a csillóéhoz. Itt is megtaláljuk — a csillóhoz hasonlóan — a cytoplasma széli részén a 9 csoport filamentumot, ellentétben azonban a szokványos csillóstruktúrával, a középső pár filamentum hiányzik. A csillófilamentumok kb. a kültag feléig érnek fel, alsó részükön pedig egy bazális testtel (átalakult centriolum, centriolum-1) állnak kapcsolatban, mely a beltag felső részében helyezkedik el. A bazális test mellett

többnyire egy másik centriolum is található (centriolum-2), melyhez azonban nem csatlakoznak csillófilamentumok. Mindkét centriolumból finom filamentumok kötege (csillógyökér) indul el a beltag belseje felé. A csillógyökér, hasonlóan sok egyéb csillóhoz, harántcsíkolt szerkezetű. A kültag végered-



5. ábra. Pálcika és csap kültagjának és a beltag felső részletének vázlata elektronmikroszkópos adatok alapján (l. szöveg)

ményben tehát csillószármazéknak tekinthető. Ez a meglepő tény felveti azt a kérdést, hogy a csillóstruktúra milyen szerepet játszik a fotoreceptor speciális funkciójában? Ez a kérdés ma még nem dönthető el. A csilló valószínűleg nem áll mozgás szolgálatában. Erre sem vitális megfigyelések nem utalnak, sem pedig elég tér a retinán belül nem áll rendelkezésre. A középső két fila-

mentum hiánya is arra mutat, hogy átalakult csillószerkezettel állunk szemben. Ma még nem tisztázható, hogy a csillóstruktúra játszik-e valamilyen szerepet a recepció vagy transzmisszió folyamatában. Mindenképpen figyelmet érdemel azonban az a megfigyelés, hogy a szagló-, halló- és egyensúlyozó szerv receptorsejtjeiben a csilló rendszeresen előfordul. — Több adatunk van azonban arra, hogy a csilló bazális testje egy másik folyamatban, a receptornyúlvány kialakulásában játszik fontos szerepet (TOKOYASHU és YAMADA 1959, EAKIN és WESTFALL 1961, CARASSO 1959). WALD és mtsai (1963) vizsgálatai szerint A-avitaminózis közepesen súlyos esetében a kültag teljes egészében degenerálódik. Ha az avitaminózis nem olyan nagyfokú, hogy a bazális testet is elpusztítsa, A vitamin adagolása esetén a kültag újraképződik. Ha azonban a bazális test is károsodott, az elváltozás irreverzibilis, a fotoreceptor nyúlvány soha nem regenerálódik.

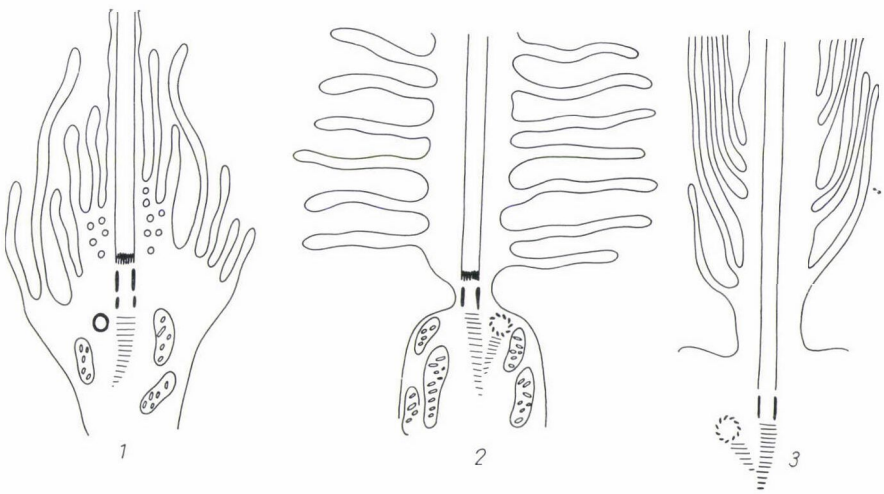
A pálcika és csap beltagja (3, 4, 5. ábra) minden bizonnyal energiaszolgáltató központ a kültag számára. Erre mutat az itt előforduló mitochondriumok igen nagy száma. A mitochondriumok a kétéltűekben a beltag felső felében nagy konglomerátumot alkotnak („ellipszoid"), emlősökben viszont a sejthártya alatt hoznak létre egy mitochondriumokban gazdag széli zónát. Ugyancsak a sejt energiatermelésében játszhat fontos szerepet a beltagban különböző mennyiségben előforduló glikogén, mely kétéltűekben jellegzetes halmazt alkot („paraboloid", CARASSO 1960), míg emlősökben szétszórtan a cytoplasmában helyezkedik el. Az anyagcsere szempontjából fontos humorális kapcsolat a kül- és beltag között kétféleképpen képzelhető el. Ilyen szempontból legjelentősebb természetesen az összekötő darab, mely közvetlen cytoplasmakapcsolatot jelent a két rész között. Nem hanyagolhatók el azonban azok a beltag felső pereméről kiinduló vékony cytoplasmanyúlványok („dendritek"), melyek felfelé haladva belefeksznek a kültag hosszanti fissuráiba. A beltag alsó, a sejtmag felé tekintő részét az endoplasmás reticulum és Golgi-apparátus foglalja el. Ugyancsak ezen a területen hosszanti irányban vékony filamentumok és csövecskék futnak. Ennek a területnek korábban kontraktilis képességet tulajdonítottak („myoid"). — Többé-kevésbé rendszeresen előforduló struktúra a csapok esetében a meglehetősen nagy lipoidcsepp a beltag felső részében. Ezek a különböző színű lipoidcseppek spektroszkópos vizsgálatok szerint (STROTHER és WOLKEN 1960) karotinoidokat tartalmaznak.

A gerinces fotoreceptorok ultrastruktúrája nagy segítséget nyújtott egyes nem tisztázott funkciójú szervek jellegének a megállapításában. Kiderült, hogy az amphibiumok frontális szerve (EAKIN 1961, EAKIN, QUAY és WESTFALL 1963), epiphysise, valamint a gyíkok „parietális szeme" (EAKIN és WESTFALL 1959, 1960, STEYN 1960) egyaránt csökevényes fotoreceptor struktúrákat tartalmaz. A fotoreceptorok a differenciálódás folyamatában különböző fokban jutottak előre, körülöttük sokszor a retina egyéb elemeire jellemző struktúrákat

is meg lehet figyelni. Fotoreceptor funkciójuk mellett szól a jellemző ultrastruktúrán kívül az a tény is, hogy fény hatására jellegzetes afferens impulzusokat lehetett az epiphysisből kiinduló pályáról levezetni (DODT és HEERD 1962), továbbá hogy a parietális szemről fényingerlés hatására elektroretinogramot lehetett nyerni (MILLER és WOLBARSHT 1962). Mindez természetesen nem zárja ki, hogy ezeknek a szerveknek, vagy azok némelyikének esetleg más, például szekréciós tevékenysége is van.

Gerinctelenek fotoreceptorai

A gerinctelenek fotoreceptorsejtjeit áttekintve jóval nagyobb változatosságot találunk, mint a gerincesek esetében. A fotoreceptorsejtek főként két differenciálódási irányba sorolhatók be, melyek között a fő megkülönböztető bélyeg a csillóstruktúra jelenléte (EAKIN 1963).



6. ábra. Tengeri csillag (1), medúza (2) fotoreceptornyúlványának, valamint amphioxus fényérzékeny ependymanyúlványának (3) vázlata

EAKIN a „*ciliaris típusú*" gerinctelen fotoreceptorok között említi a tüskésbőrűek és az űrbélűek látósejtjeit. Az előbbiek esetében négy tengericsillag fajt vizsgáltak (EAKIN 1963, VAUPEL—v. HARNACK 1963). Úgy találták, hogy a látósejtek az ocellus falában hengerded képletek, melyeknek a szem belseje felé tekintő oldaláról egy hosszú, csillószerű nyúlvány és számos mikroboholy indul ki. A csillófilamentumok száma itt is 9, a csilló egy bazális lemezből és testből indul ki, mely a sejt belseje felé harántcsíkolt gyökérrel áll kapcsolatban (6, 7. ábra).

Ugyancsak a ciliáris típusú fotoreceptorokhoz tartoznak az űrbélűek látósejtjei. A medúza (EAKIN és WESTFALL 1962) látósejtje rendkívül hasonló a tengericsillagéhoz (6, 8. ábra). Az egyetlen különbséget csupán az



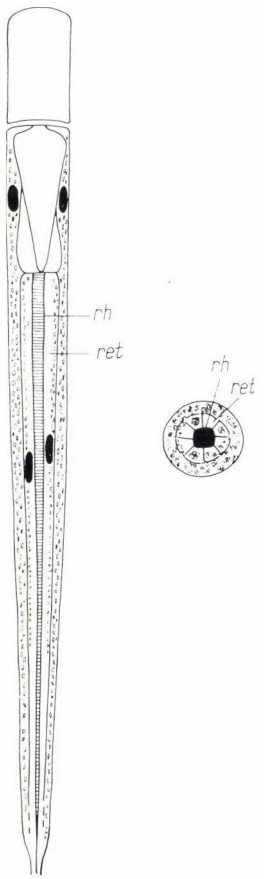
7. ábra. Részlet tengeri csillag *(Henricia leviuscula)* látósejtjeiből. Jól láthatók a csillós struktúrák (c), a csillófilamentumokkal (f), a bazális testtel (bp), a centriolummal (cl). A betéten megfigyelhető, hogy a középső két csillófilamentum hiányzik. EAKIN (1963)



8. ábra. Medúza *(Polyorchis penicillatus)* fotoreceptorsejtje (rc). A receptornyúlványról számos mikroboholy indul ki. Jól láthatók a csillófilamentumok (f), a bazális lemez (bp), a két centriolum (c1, c2) és a belőlük kiinduló csillógyökér (r). pc pigmentsejt, pg pigmentszemcse, m mitochondrium. EAKIN (1963)

jelenti, hogy a mikrobolyhok nem a csilló bázisáról, hanem a csilló oldaláról erednek.

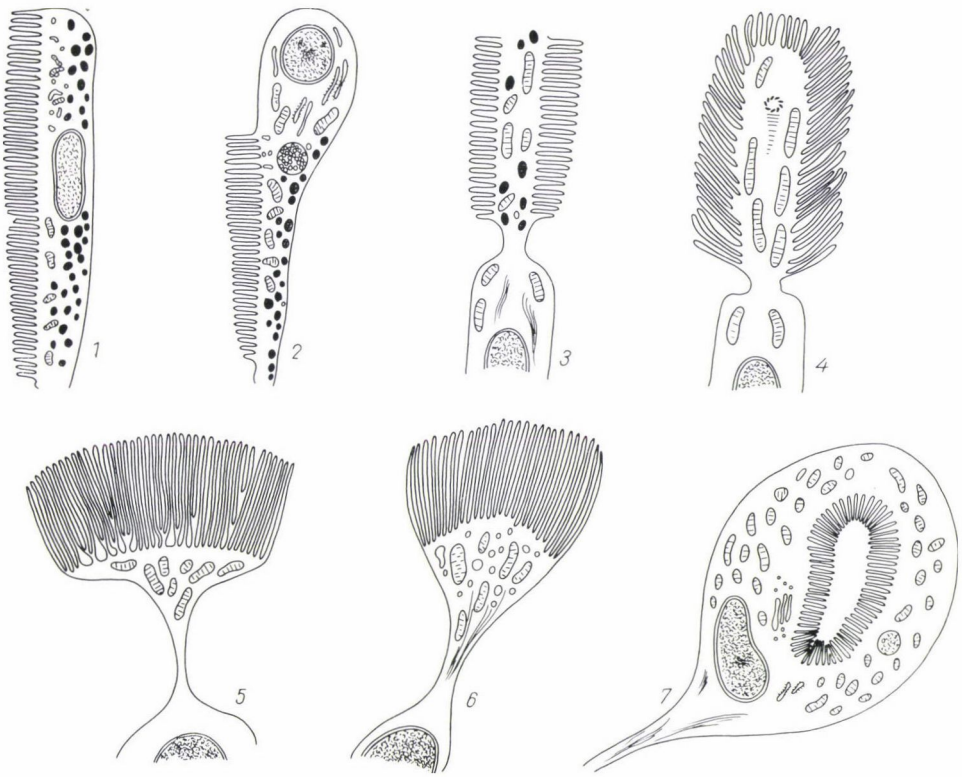
A másik fő differenciálódási irányt azok a fotoreceptorok képviselik, melyekben nincs csillóstruktúra, ezzel szemben a mikrobolyhok száma lényegesen nagyobb („rhabdomera típus", EAKIN 1963). Ezek között a leginkább



9. ábra. Rovar egyszerű szemének sémája (hossz- és keresztmetszet) ret retinulasejt, rh rhabdom

vizsgált objektumot az ízeltlábúak képezik, ezek közül is a rovarok állnak a kutatások előterében (GOLDSMITH 1962, GOLDSMITH és PHILPOTT 1957, KHALLAF 1958, MILLER 1957, WOLKEN, CAPENOS és TURANO 1957, WOLKEN, MELLON és CONTIS 1957, FERNÁNDEZ-MORÁN 1958). A rovarok összetett szemét alkotó primitív szem mikroszkópos szerkezetét a 9. ábra mutatja be. A szem főtömege a körben elrendeződő, hosszan elnyúlt fotoreceptorsejtekből (retinula sejtek) áll. Cytoplasmájuk széli részén árnyékoló pigmentszemcsék vannak,

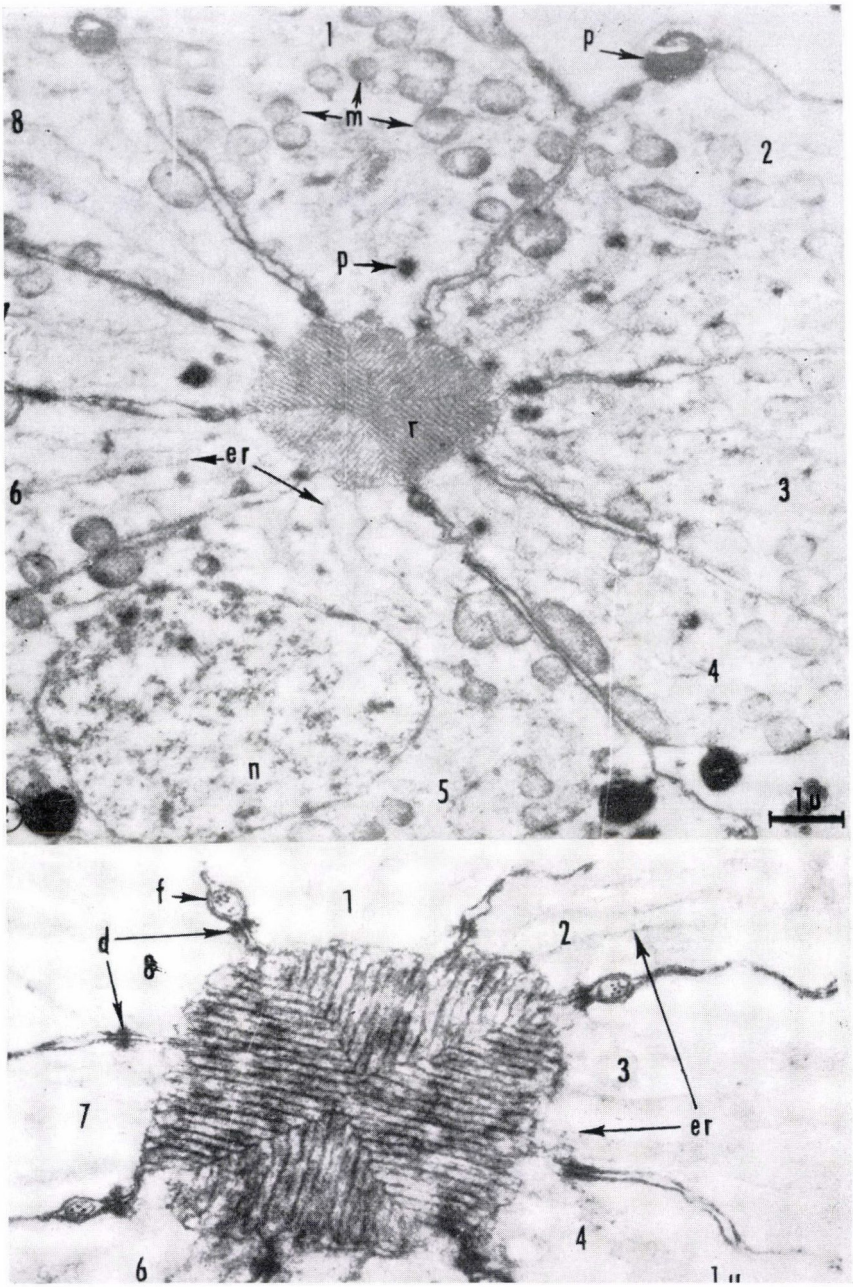
többnyire azonban még külön külső pigmentsejtek is csatlakoznak hozzájuk. A receptorsejtek érintkezésénél a szem tengelyében egy hosszanti fénytörő képlet, a rhabdom helyezkedik el, fölötte a fénygyűjtő lencsével és corneaval. A rhabdom kisebb egységekből, az egyes retinulasejtekhez tartozó rhabdomerákból tevődik össze. A rhabdomot sajátságos helyzete alapján már korábban is a rovarszem speciális fotoreceptor struktúrájának tartották. További meg-



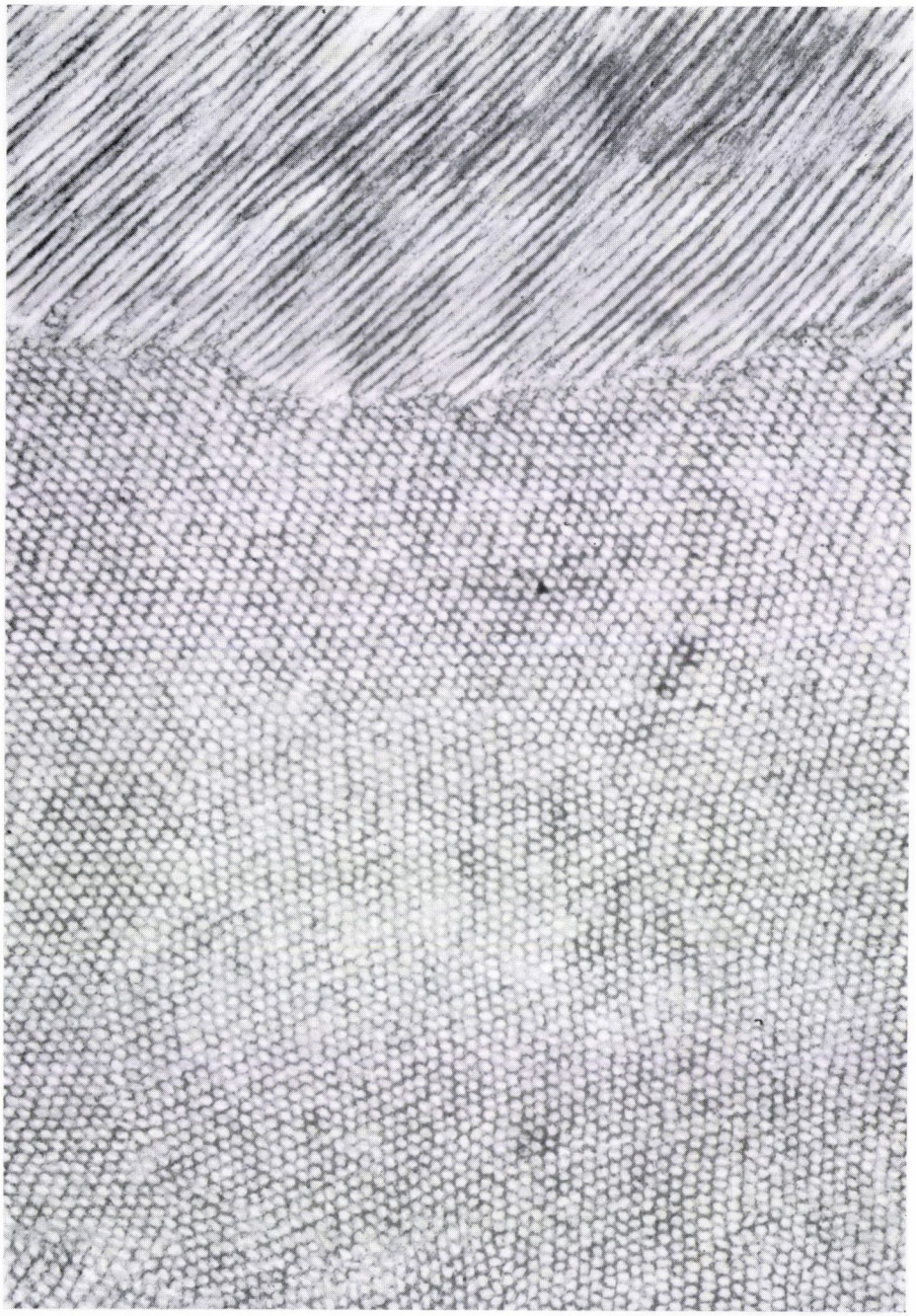
10. ábra. Látósejt, ill. fotoreceptornyúlvány vázlata rovarból (1), daphniából (2), tintahalból (3), nereidából (4), csigából (5), planáriából (6) és piócából (7)

erősítést nyert ez a vélemény az elektronmikroszkópos vizsgálat alapján. A rhabdomerákról kiderült ugyanis, hogy azok lényegében rendkívül szabályosan elrendeződő és igen vékony mikrobolyhokból állnak. A retinulasejtek száma, a rhabdomerák alakja, elrendeződése és egymástól való távolsága, továbbá a mikrobolyhok iránya az egyes rovarfajokban igen jellegzetes és többnyire különbözik, általánosságban megállapítható azonban, hogy a mikrobolyhok orientációja nagyjában radier irányú (11. ábra).

Hasonló képet nyújt a rákok összetett szeme is. A *Daphnia* (10, 12. ábra) primitív szemében azonban a rhabdomerákat alkotó mikrobolyhok iránya



11. ábra. Rovarszem (méh, *Apis mellifica)* elektronmikroszkópos képe. A felső képen egy primitív szem keresztmetszetét láthatjuk, mely nyolc látósejtből (1—8) tevődik össze. Középen megfigyelhetjük a látósejtek nyúlványaiból adódó rhabdomot. n sejtmag, m mitochondrium, er endoplazmás retikulum, p pigmentszemcse. Az alsó képen a rhabdom nagyobb nagyítású felvételét látjuk, mely négy quadránsra oszlik. Mindegyik quadráns fele tartozik egy-egy látósejthez (rhabdomera). Egy-egy rhabdomera tubularis egységekből, mikrobolyhokból áll. A sejteket desmosomák (d) erősítik egymáshoz. GOLDSMITH (1962)



12. ábra. Részlet *Daphnia magna* rhabdomjából. A kép felső felében a mikrobolyhok hossz alsó kétharmadában pedig keresztmetszeteit figyelhetjük meg

már nem mutat olyan szigorú törvényszerűségeket, mint a rovarszemben (RÖHLICH és TÖRÖK 1962).

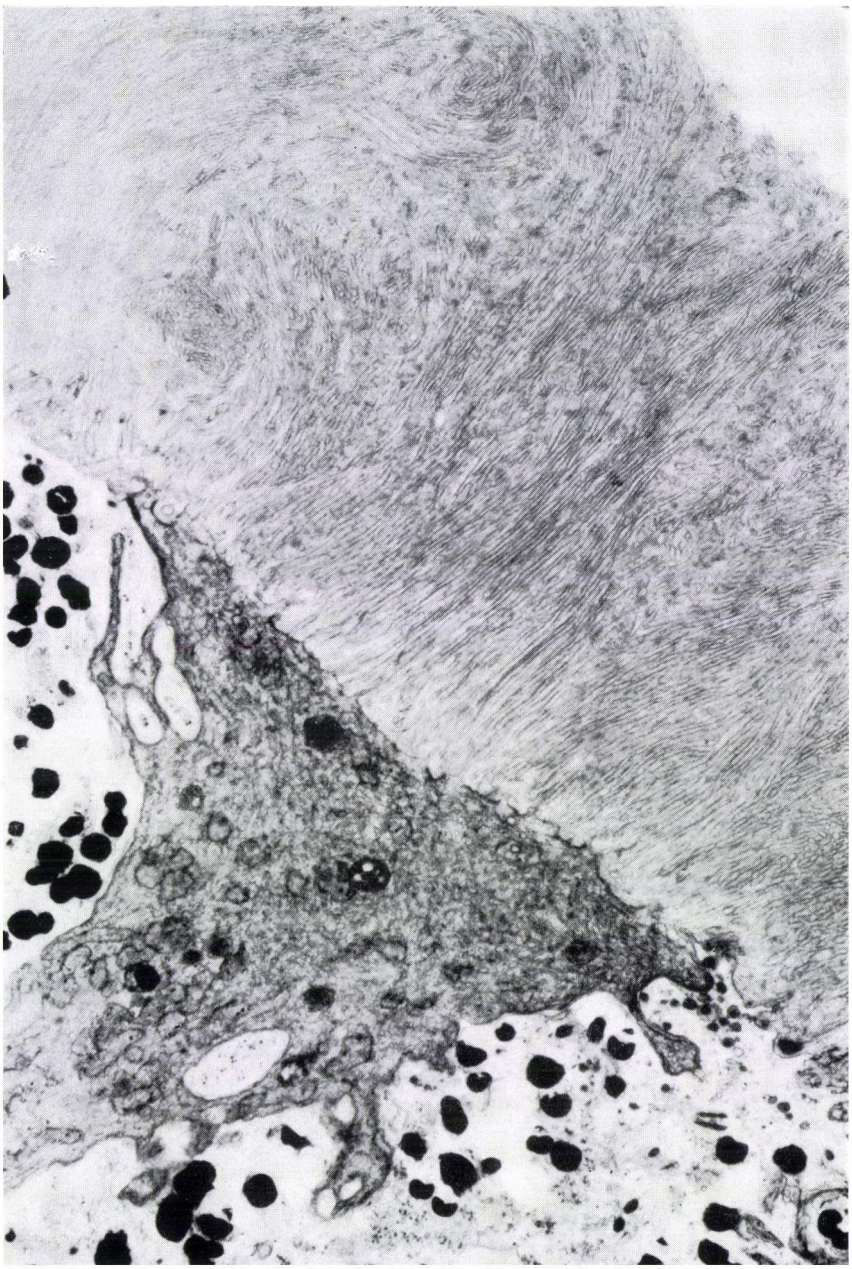
Az összetett szem mellett egyes ízeltlábúakban primitívebb szerkezetű, többnyire egy-két ocellusból álló szemet, ún. nauplius szemet is találhatunk. A látósejtek fotoreceptor struktúrája itt is megegyezik a rhabdomerákéval (RÖHLICH és TÖRÖK 1962, FAHRENBACH 1964).

A puhatestűek magasabb rendű formáinál, a lábasfejűeknél *(Octopus, Sepia)* a szem szerkezete még jelentősen hasonlít az ízeltlábúakéhoz. ZONANA (1961) szerint a mikrobolyhok a hosszan elnyúlt fotoreceptor nyúlvány széléről sugarasan erednek (10. ábra). A mikrobolyhok rhabdomera elrendeződésben találhatók meg, hasonlóan a rovarszemhez. A rhabdomerák elrendeződése meglehetősen szabályszerű (WOLKEN 1958, MOODY és ROBERTSON 1960, ZONANA 1961, NISHIOKA, HAGADORN és BERN 1962). A gastropodák közül a csigákat vizsgálták alaposabban (RÖHLICH és TÖRÖK 1963, SCHWALBACH, LICKFELD és HAHN 1963, EAKIN 1963). A csiga-ocellus egyrétegű retináját pigment és látósejtek közösen alkotják. A látósejtnek az ocellus belső felszíne felé tekintő nyúlványa végén tányérszerű kiszélesedés található, melynek felszínéről rendkívül sok, akár több tízezernyi igen hosszú és vékony mikroboholy nyúlik a szem belseje felé (10. és 13. ábra).

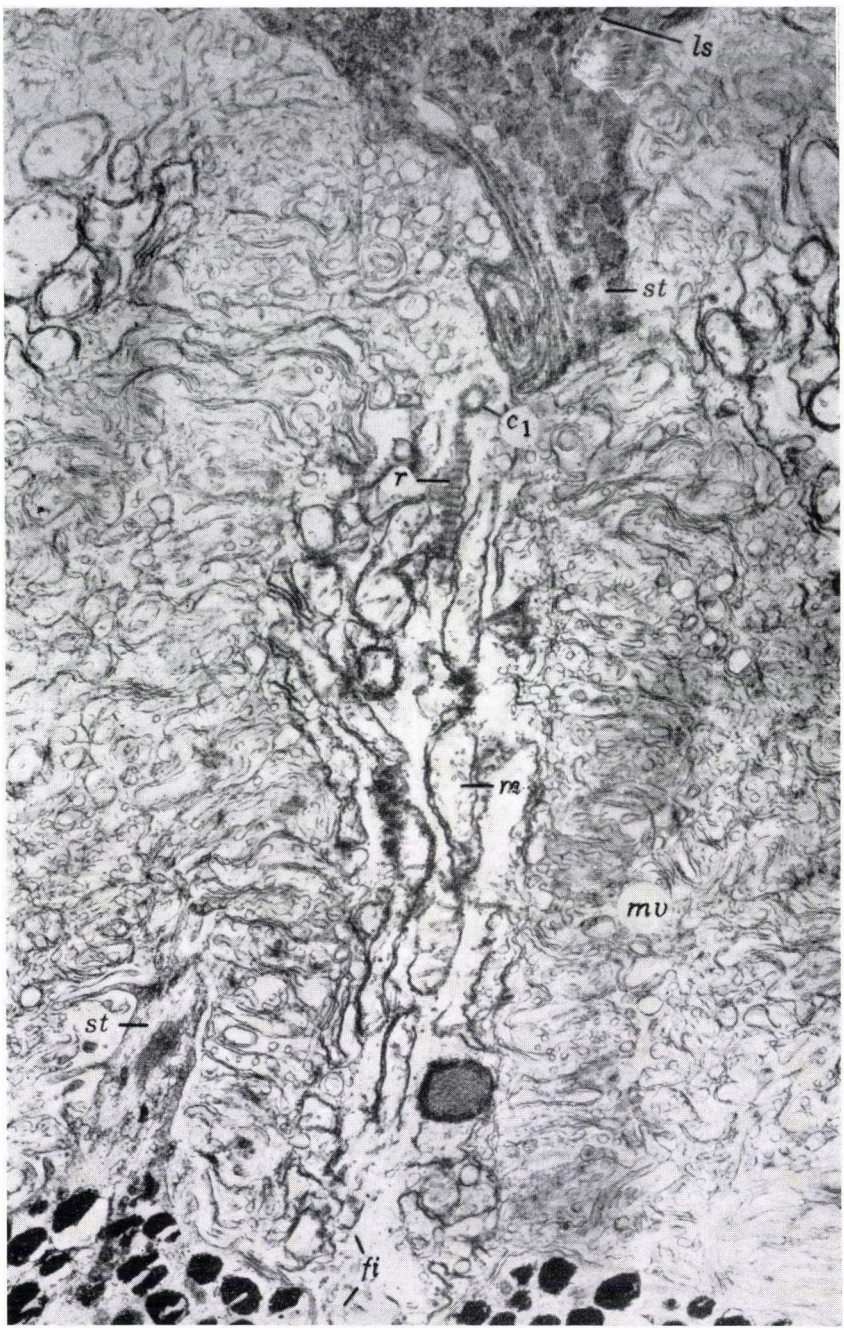
A gyűrűsférgek phylumában két jelentős differenciálódási irányt figyelhetünk meg. Bár mindkettő esetében a fotoreceptor struktúra mikrobolyhokból áll, csilló nélkül, a mikrobolyhok elhelyezkedése azonban a sejthez viszonyítva igen különböző. Így például a polychaeta *Nereis vexillosá*ban, *Neanthes succineá*ban (EAKIN 1963, 1964a), továbbá a *Platynereis Dumerilliiben* (BRÖKELMANN és FISCHER 1963) a látósejt hosszú vastag nyúlványából indulnak ki a mikrobolyhok (10, 14. ábra). Ezzel szemben a piócafélékben a mikrobolyhokat — teljesen szokatlan módon — a látósejt belsejében találjuk meg (HANSEN 1962, RÖHLICH és TÖRÖK 1964). A mikrobolyhok ezekben a fajokban a látósejt belsejében helyetfoglaló óriási vakuolum falából erednek és irányulnak a vakuolum belseje felé (10, 15. ábra). Meg kell jegyezni, hogy a *Nereidá*k látónyúlványában EAKIN csökevényes csillószerkezetet is megfigyelt, mely azonban inkább a fejlődő szemben kifejezett és később csupán a bazális test és csillógyökér marad meg belőle.

A laposférgek látósejtje bipoláris sejt, melynek distalis nyúlványa nyúlik bele a pigmentkehelybe. Megfigyelésünk szerint (RÖHLICH és TÖRÖK 1960, 1961) a mikrobolyhok a látórost kiszélesedő végződéséről erednek; vagy a bunkó teljes felszínéről minden irányban *(Dendrocoelum lacteum)*, vagy pedig csak a végdarabjáról legyezőszerűen *(Dugesia lugubris*, 10. és 16. ábra).

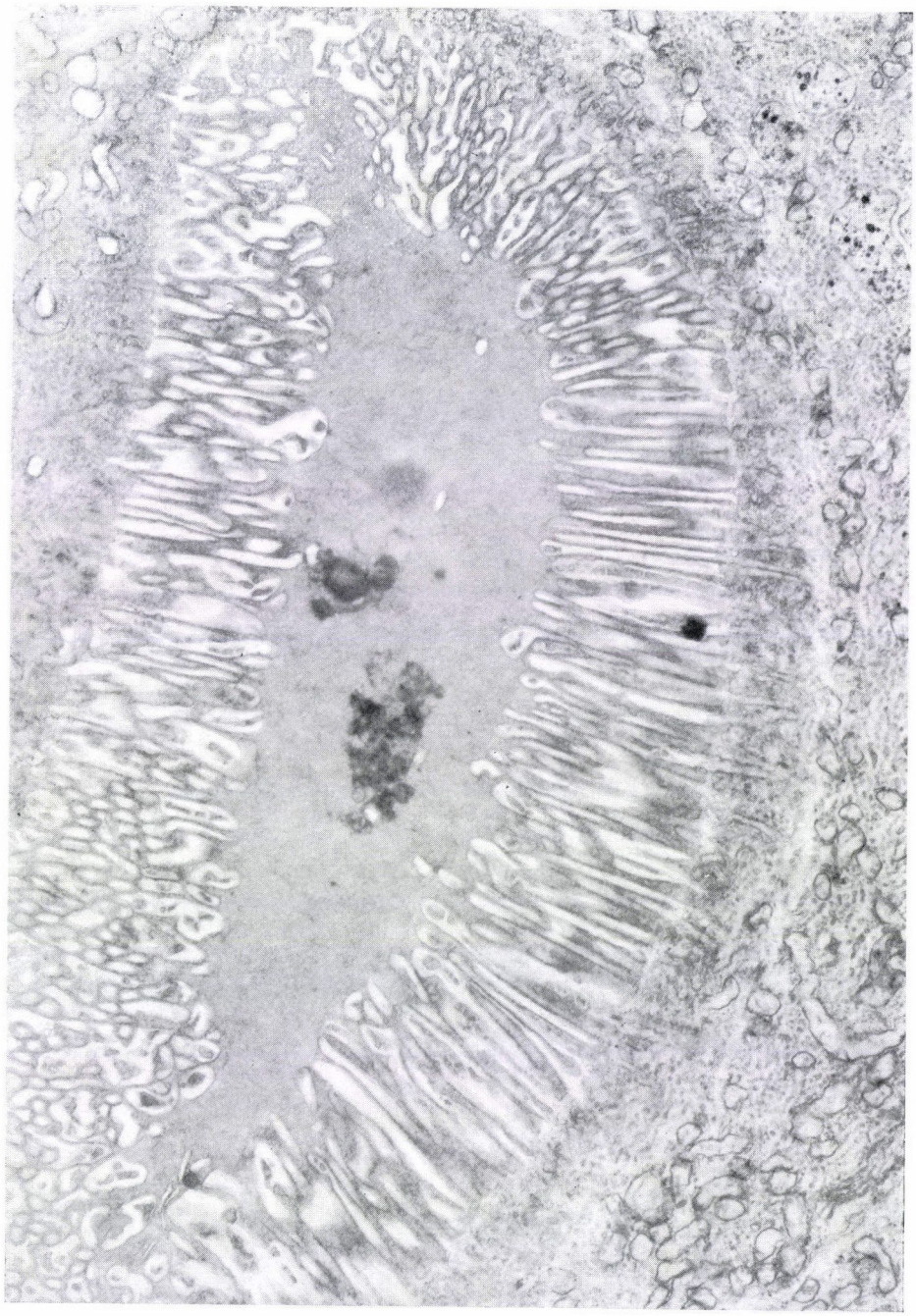
Közbülső helyet foglal el az amphioxus *(Branchiostoma californiense*, EAKIN és WESTFALL 1962) a ciliaris és nem ciliaris fotoreceptorral rendelkező állatfajták között. Az állat neurocoeljének dorsalis ependymáján található fotoreceptor jellegű nyúlvány ugyanis ciliaris származék, melynek széléről



13. ábra. Éticsiga *(Helix pomatia)* fotoreceptor nyúlványának átnézeti képe. A kiszélesedő nyúlványból igen nagyszámú és rendkívül hosszú mikroboholy indul ki

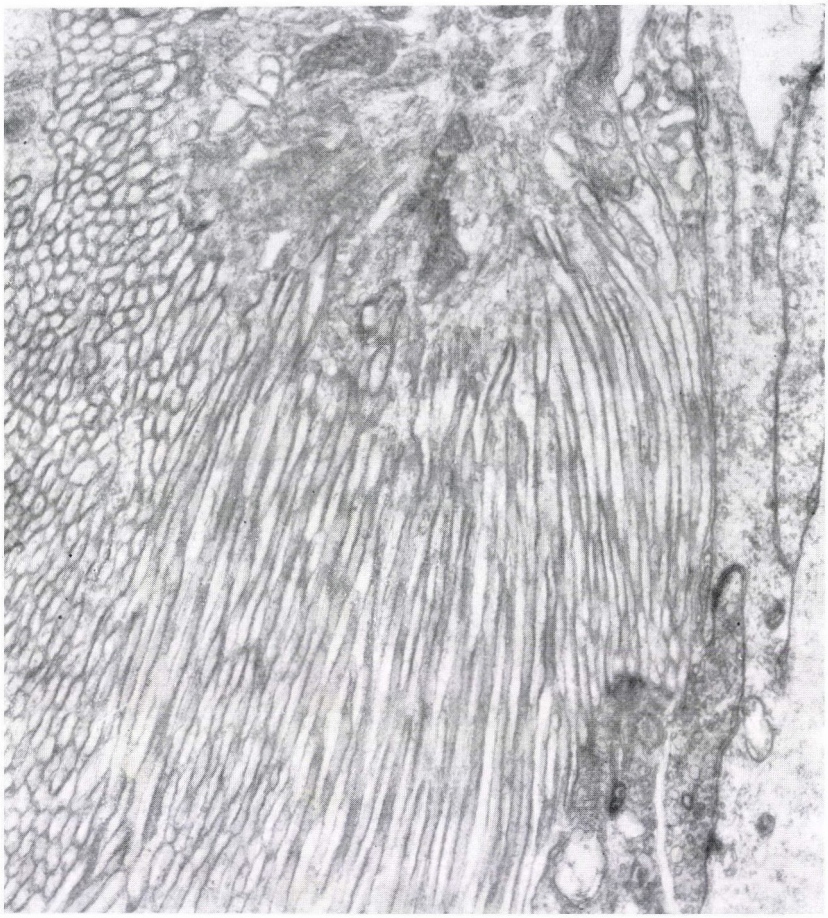


14. ábra. Polychaeta *(Nereis vexillosa)* fotoreceptor struktúrája. A kép közepén megfigyelhetjük a látónyúlványt, benne mitochondriumokkal (m), a centriolummal (cl) az ahhoz tartozó gyökérrel együtt (r), valamint a kép nagyobb részét kitöltő mikrobolyhok (mv) tömegét. EAKIN (1963)



15. ábra. Részlet pióca *(Hirudo medicinalis)* látósejtjéből. Rendkívül érdekes, hogy a mikrobolyhok a sejt belseje felé tekintenek és egy nagy vakuolum falát szegélyezik

membranózus képletek indulnak ki (6. ábra). Ezzel szemben az ún. Joseph sejt (az agy dorsalis falában) és a Hesse sejt (a velőcső mentén) nem ciliaris típusú. Ezeken a sejteken a fotoreceptor struktúrát nagyszámú mikroboholy képezi („rhabdomera" típus, 17. ábra).

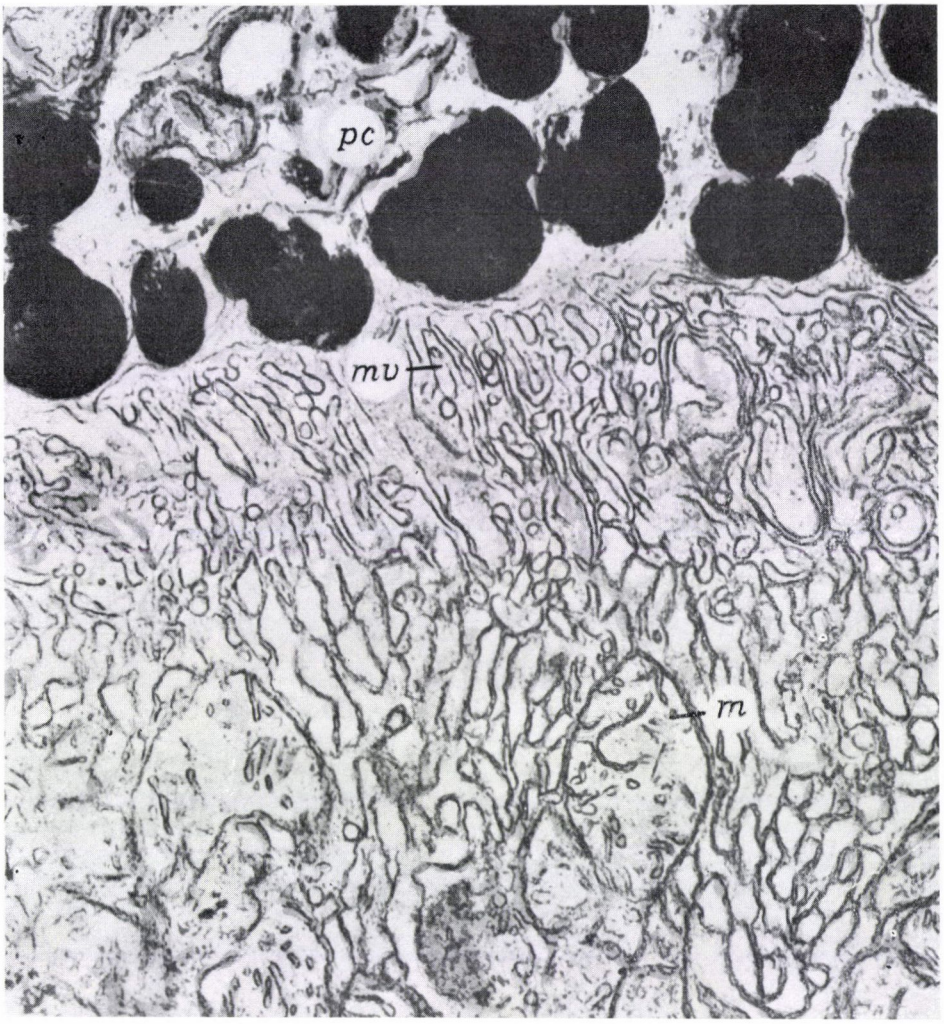


16. ábra. Részlet planária *(Dugesia tigrina)* látóbunkójából. A képen jól megfigyelhető hogy a látóbunkó cytoplazmájából igen sok hosszú mikroboholy indul ki

Végül meg kell emlékezni egy különleges fotoreceptorsejtről, mely nehezen hasonlítható össze az eddig leírt struktúrákkal. A nyílféreg *(Sagitta scrippsae*, EAKIN és WESTFALL 1964b) látósejtje több részből áll: legfelső részében kb. 800 db 500 Å vastag tubulust (fotoreceptor struktúra?) tartalmaz, mely alatt egy kúpos segmentum és egy átalakult csilló található (18. ábra).

Végigtekintve a gerinctelenek fotoreceptor struktúráin megállapíthatjuk, hogy közös struktúrelemként elsősorban a mikroboholy jön számításba. Minden

eddig vizsgált gerinctelen fotoreceptorban ugyanis a mikrobolyhok igen nagy számát találhatjuk meg. Az a tény, hogy az összes gerinctelen szemben megtalálható, továbbá hogy mindig a fénynek leginkább kitett területet foglalja el

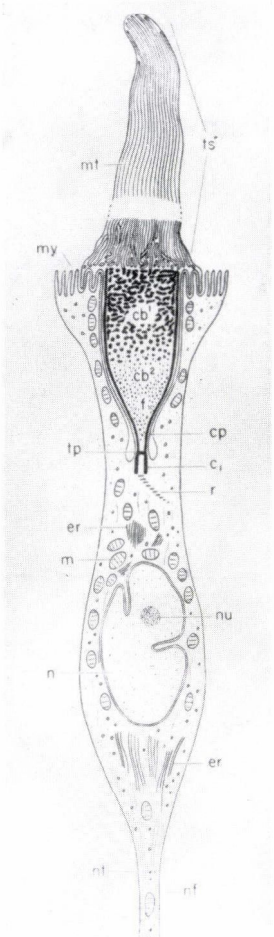


17. ábra. Amphioxus *(Branchiostoma californiense)* látósejtje (Hesse-sejt). A képen jól megfigyelhetők a fotoreceptor struktúrát képező mikrobolyhok (mv). pc pigmentsejt, m mitochondrium

(lencse mögötti terület, retina belső felszíne stb.) közvetve arra utal, hogy ezt a struktúrát tekinthetjük a látósejt speciális fotoreceptor struktúrájának. — A mikroboholy felületének a tömegéhez való viszonya olyan, hogy rendkívül alkalmassá teszi a felületet alkotó membrán relatív megnagyobbítására. Az éticsiga esetében, ahol a mikroboholy hossza a 12 μ-t is eléri, vastagsága

pedig átlagosan 1000 Å, a mikroboholy felülete az alapterülethez viszonyítva kb. 500-szoros.

Leírtak olyan fotoreceptornak tartott struktúrákat is, melyek nem tartalmaznak mikrobolyhokat *(Oligochaeta* bőrérzéksejtjei, BRADKE 1962, folyami



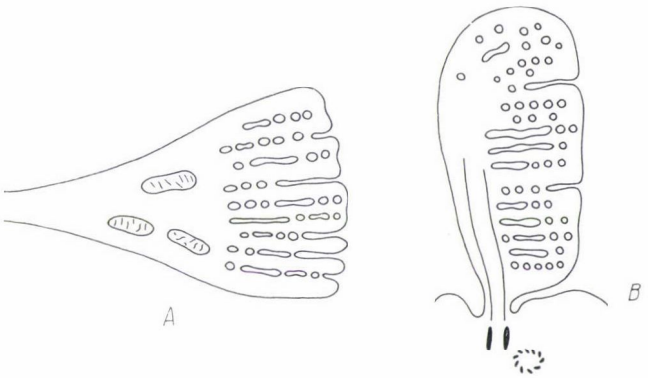
18. ábra. Nyílféreg *(Sagita scrippsae)* fotoreceptor sejtjének sémája. A fotoreceptor struktúrát a sejt végében levő tubuláris szegmentum (ts) alkotja. mt mikrotubulusok, mv mikrobolyhok, cb^1 és cb^2 kúpos szegmentum, f csillófilamentumok, tp, c^1, r bazális test csillógyökérrel, er endoplazmás retikulum, m mitochondrium, n, nu sejtmag magvacskával, nf, nt centrális rost neurotubulusokkal. EAKIN (1963)

rák abdominális ganglionjának sejtjei, UCHIZONO 1962 stb.). Ezek általában intracelluláris tubulusokból állanak, melyek felületnagyobbító jellege szintén nyilvánvaló. Meg kell jegyezni azonban, hogy ezeknek a struktúráknak fotoreceptor funkciója még nem bizonyított.

A mikrobolyhokon kívül feltűnő még a nagyszámú mitochondrium és többnyire a glikogén jelenléte. Ezeknek a komponenseknek a sejt energiát szolgáltató folyamataiban való részvétele közismert. Tekintve, hogy gerinces és gerinctelen fotoreceptorban egyaránt megtalálhatók, úgy látszik, hogy a fotorecepció folyamatában lényeges szerepet játszanak.

A fotoreceptor membrán

A gerinces és gerinctelen fotoreceptorok ultrastruktúrájának összehasonlításakor azonnal feltűnik, hogy mindkét típusú fotoreceptorra egyaránt jellemző a felületnagyobbító tendencia. A fotoreceptor aránylag kis helyen



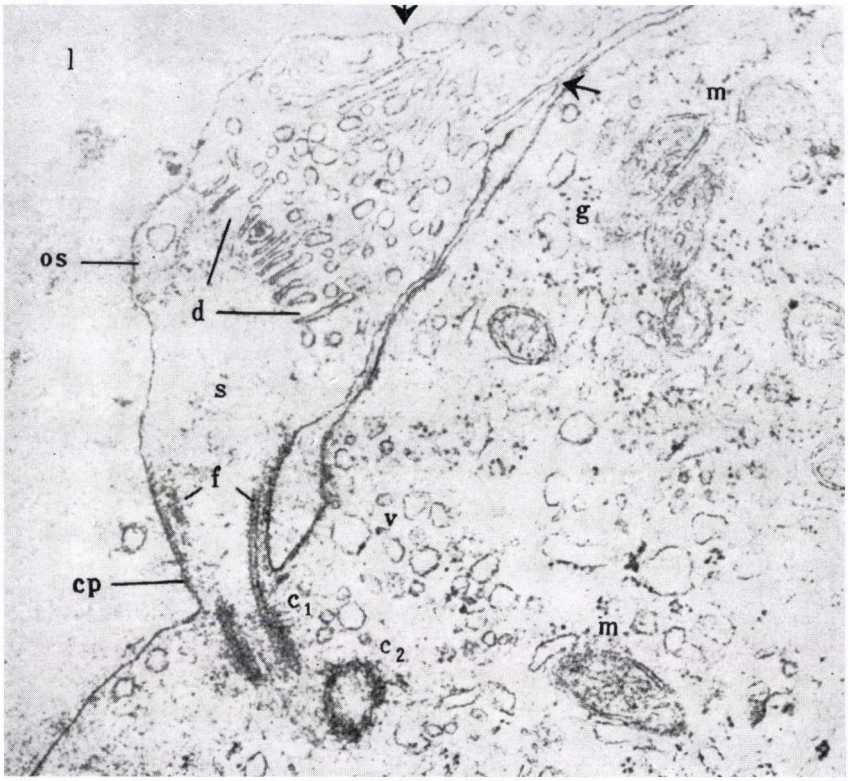
19. ábra. Gerinctelen (planária, A) és gerinces (kétéltű B) fotoreceptor nyúlvány morfogenezisének vázlata

rendkívül nagy mennyiségű membránt helyez el. Ez a gerinces fotoreceptor esetén a lapos korongok formájában történik (egy-kétezerszeres felületnagyobbítás), a gerincteleneknél pedig a mikrobolyhok szolgálják ezt a célt (többszázszoros felületnagyobbodás). A kétféle membrán homológiájára látszik utalni a lapos vakuolumok, illetve mikrobolyhok kialakulása.

A pálcikák kültagjának fejlődése a sejt scleralis oldaláról kezdetben a centriolum felett kiboltosuló cytoplasma nyúlvány formájában indul el (19, 20. ábra). A nyúlvány nagyobbodásával együtt csillófilamentumok nőnek a bazális testté átalakult centriolumból a nyúlványba. Ezzel egy időben a nyúlvány cytoplasmájában kis vesiculumok jelennek meg, melyek eredete még nem tisztázott. De Robertis (1956) szerint a cytoplasmában keletkeznek, a szerzők többsége azonban (Carasso 1959, Tokoyashu és Yamada 1959, Eakin és Westfall 1961) inkább a sejthártyáról levált vesiculumoknak fogja fel őket. A vesiculumok a csillófilamentumok irányára merőleges síkokban rendeződnek, majd összefolynak és ezáltal lapos, a vesiculumok átmérőjének megfelelő vastagságú vakuolumokat, korongokat képeznek. Eakin szerint

elképzelhető az is, hogy a kettős membránú korongok a sejthártya közvetlen betüremkedései.

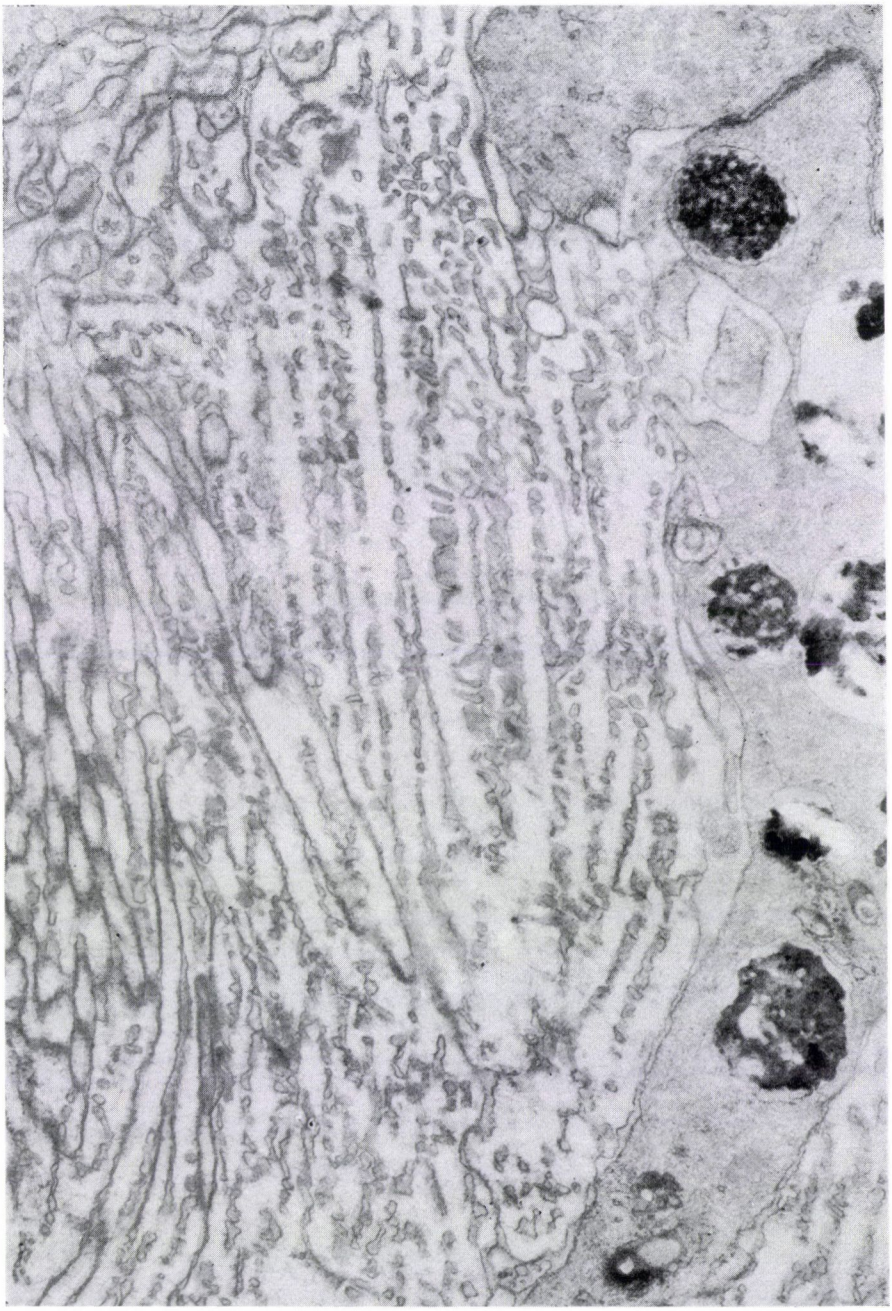
A gerinctelen fotoreceptorok struktúrájának kialakulásában a vesiculumok szintén döntő szerepet játszanak. Planáriák szemének regenerációját vizsgálva (RÖHLICH és TÖRÖK 1960, 1962) megfigyelhető (21, 22. ábra), hogy



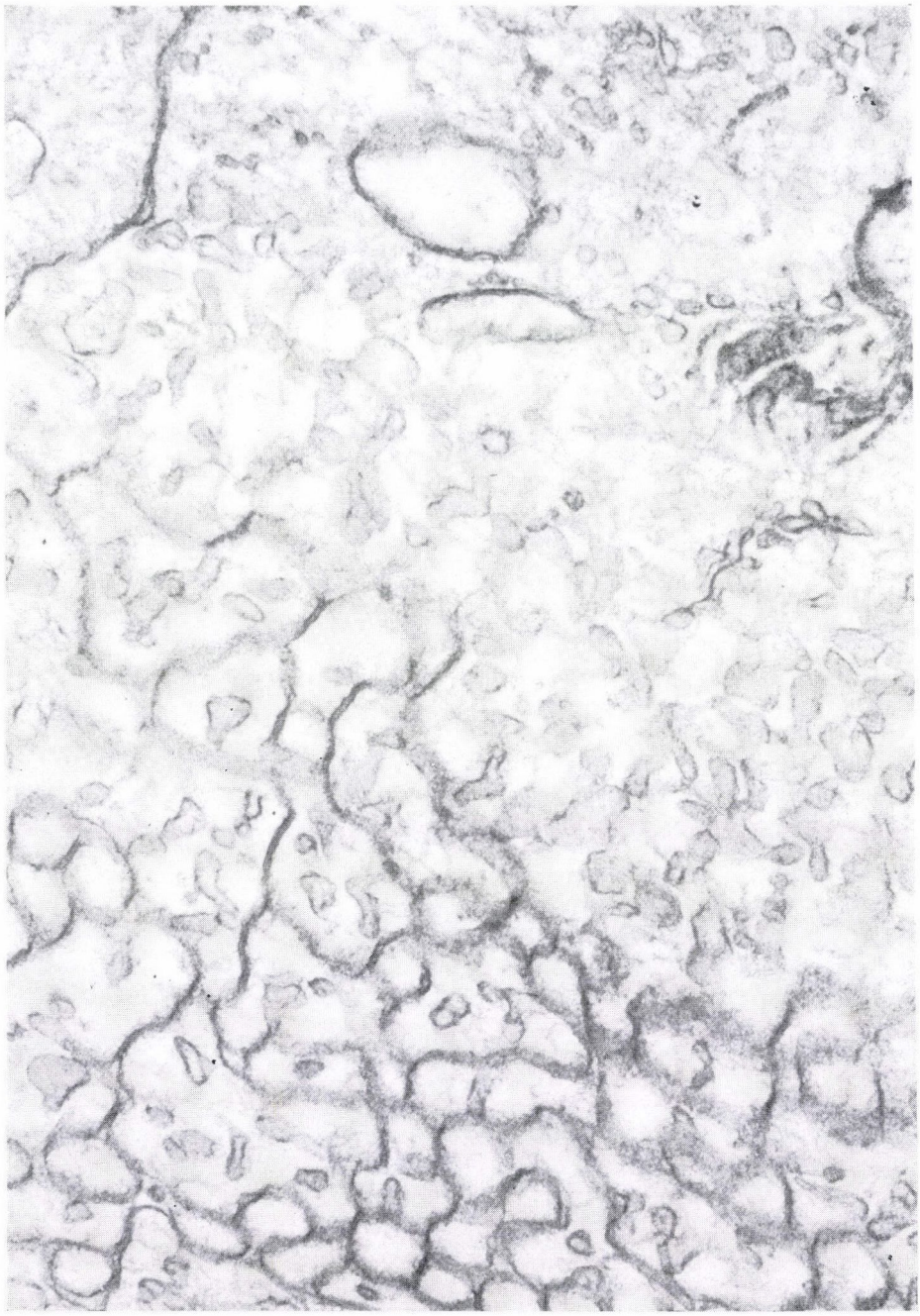
20. ábra. Pálcika kültagjának morfogenezise béka *(Hyla regilla)* látósejtjében. Jól látható a két centriolum (c^1, c^2), melyek közül az egyik a fotoreceptor nyúlvány bazális testét képezi. A fotoreceptor nyúlványban vesiculumok és a sejthártya tubulozus betüremkedései (nyilak) láthatók, melyeknek lapos vakuolumokká (d) való összefolyása egyes helyeken jól látható. cp összekötő darab, os leendő pálcika kültag, m mitochondrium. EAKIN és WESTFALL (1961)

a kialakuló látóbunkó cytoplasmájának végében kis vesiculumok jelennek meg. Ezek a vesiculumok rövidesen összeolvadnak, réseket képeznek, melyek kinyílnak a felszínre. Így a felszínre merőleges rések rendszere keletkezik, mely a széli cytoplasmát mikrobolyhokká tagolja. Hasonló folyamatot figyelt meg WADDINGTON és PERRY (1960) *Drosophila melanogaster* rhabdomerájának kialakulásakor.

Úgy látszik, hogy mind a gerinces, mind a gerinctelen fotoreceptor fejlődésében az alapvető közös mozzanat a vesiculumok megjelenése és fúziója,



21. ábra. Fotoreceptor struktúra kialakulása gerinctelen szemben (planária, *Dugesia lugubris*). A mikrobolyhok azáltal jönnek létre, hogy a leendő fotoreceptor cytoplazmájában vesiculumok jelennek meg, melyek sorba rendeződve a mikrobolyhokat elválasztó réseket hozzák létre. Így tehát a vesiculumok membránja a későbbi mikrobolyhok membránjává lesz



22. ábra. A mikrobolyhok képződése planáriaszemben. A cytoplazmában megjelenő vesiculumok réseket hoznak létre, melyek a későbbi mikrobolyhoknak megfelelő cytoplazmaterületeket fogják körül

miáltal hatalmas membránfelületek keletkeznek. Újabban felmerült az a lehetőség, hogy a cytoplasmában található vesiculumsorok, mint osmiumfixálási műtermékek, már meglevő kettős membránoknak vesiculumokká történő szétesésében jönnek létre. Ez a kérdés még nem eldöntött; amennyiben azonban ez a kétely beigazolódik, a mikroboholy membrán és a lapos korongok membránja még mindig homológ struktúrának tekinthető, mert mindkettő a sejthártya betüremkedéséből jön létre és így annak derivátuma.

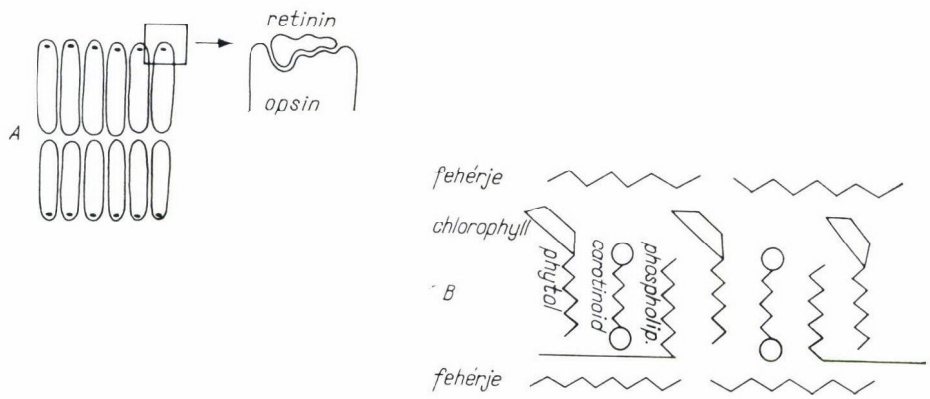
Mint láttuk, az összes állati fotoreceptor szerkezet közös struktúreleme tehát a nagy felületű membrán. A fotorecepció alapfolyamata tehát, tisztán összehasonlító morfológiai következtetésekből kiindulva, feltehetőleg ehhez a membránhoz kötött. Ez az elképzelés az elektrofiziológia és biofizika eredményeivel összhangban áll. Mivel a legtöbb elektrofiziológiai, biokémiai és egyéb adat a gerinces fotoreceptorra vonatkozik, a következőkben elmondottak csupán ezt a fotoreceptor típust érintik.

Milyen lehet a fotoreceptor membrán legfinomabb, molekuláris szerkezete? Az elektronmikroszkópos metodika határai még nem engedik meg, hogy a membrán ilyen finom felépítésébe betekinthessünk, és így csak közvetett úton, egyéb adatokból tudunk következtetni erre a struktúrára. Interferencia mikroszkópos adatok (Sidman 1957) szerint a pálcikák kültagjának szárazanyagtartalma meglehetősen nagy (40—43%). Ezen szárazanyagnak viszont biokémiai vizsgálatok szerint nagy részét (10—40%) a látófesték — a pálcika esetében a rhodopsin — alkotja. A rhodopsin olyan összetett fehérje, mely egy fajspecifikus fehérjéből (opsin) és egy karotinoid chromophorból (retinin 1) áll, ahol a chromophor fény hatására leválhat a fehérjéről. Hogyan épül be ez az összetett makromolekula a pálcika kültagjába? Ennek a kérdésnek az eldöntése komoly segítséget jelenthet a biofizikának a fotorecepció folyamatának tisztázásában. Tekintve, hogy a lipoprotein általában erősen ozmiofil anyag, feltehető, hogy a rhodopsin osmiumfixálás után az elektronmikroszkópban elég intenzív árnyékot ad. Ebben az esetben a rhodopsin csak a pálcika membránjaiba, mint egyetlen intenzív elektronárnyékot adó struktúrába lokalizálható. Erre utal a membránok nagy tömege és a rhodopsin nagy koncentrációja közötti párhuzam is. A lipoprotein molekula fizikokémiai sajátságai is arra predesztinálják a rhodopsin molekulát, hogy rétegekbe csoportosuljon.

Igen érdekes kérdés, hogy a rhodopsin hogyan épül be a membránba? Ebben a kérdésben még csak feltevésekre vagyunk utalva. Az egyik vélemény szerint (Wolken 1956) a lipoprotein molekulák bimolekuláris rétegeket alkotnak, melyek a tulajdonképpeni fotoreceptor membránt hozzák létre. Ebben az elrendeződésben a chromophorok (retinin) a bimolekuláris réteg két külső felszíne felé tekintenek, ahonnan fény hatására könnyen le is válhatnak (23. ábra). — Rendkívül érdekes az analógia a lamelláris szerkezetű pálcikakültag és a növényi sejtek hasonlóan lemezes felépítésű chloroplastja között.

Ez a szerkezeti hasonlóság, mely a fotoreceptív funkcióban is megnyilvánul, arra indította WOLKENT, hogy a két receptor membrán molekuláris struktúrájában is az analógia elvét érvényesítse. A növényi fotoreceptor membrán molekuláris struktúrája szerinte úgy képzelhető el, hogy a chlorofill, karotinoid és foszfolipid molekulák a felszínre merőlegesen, tömött rendszerben helyezkednek el, míg a fehérjeláncok az így létrejött réteg két felszínéhez asszociálódnak (23. ábra).

Igen érdekes számításokon alapszik BROWN, GIBBONS és WALD (1963) elképzelése a látófesték beépülésére vonatkozólag. *Necturus* fotoreceptor



23. ábra. A fotoreceptor membrán molekuláris szerkezetének vázlata állati (A) és növényi (B fotoreceptorban. Az állati fotoreceptor membrán bimolekuláris lipoprotein molekulákból épül fel, a chromophor molekula a kifelé tekintő oldalon van. A növényi fotoreceptorban két fehérjeréteg között helyezkednek el a felszínre merőlegesen elrendeződő lipid molekulák

membránjában a membránfelszín felől tekintve kerek, sötétebb szerkezetű, 300 Å átmérőjű képleteket figyeltek meg (pálcika-micellák). Ezek a korongszerű micellák a fotoreceptor membránba vannak beépítve, vastagságuk tehát annak vastagságával (50 Å) egyenlő. Sűrűségük olyan, hogy egyetlen fotoreceptor lamellán 15 800, egy pálcikában pedig 35 millió ilyen micella van. Ugyanezen állat látófestékjét (porphyropsin = opsin + retinin 2) a retinán mikrospektrofotométerrel megmérve úgy találták, hogy az extinctio 525 mμ-nál kb. 0,07. Mivel — polarizációs mikroszkópos adatok szerint — az extinctio függ a molekulák orientációjától (nagyobb, ha a chromophor a fény irányára merőleges helyzetű), feltételezték, hogy a prophyropsin molekula a fényrecepcióra optimális helyzetben van a pálcikába beépítve és így extinctiója az oldatban orientálatlanul található festék molekulákénál nagyobb (kb. 1,35×). A moláris extinctio a porphyropsin esetében 30 000, a retina 0,07 extinctiója orientálatlan festék molekulákra átszámítva (0,07 : 1,35 = 0,052) 0,052, melyet ha arányba állítunk a 30 000 extinctióval (0,052 : 30 000 = $1{,}73 \cdot 10^{-6}$) $1{,}73 \cdot 10^{-6}$ mól prophyropsint kapunk, mely a moláris extinctio fogalmából

kiindulva 1000 cm^2-en oszlik el. A 177 μ^2 pálcika membránfelület esetén a pálcikának 306 · 10^{-17} mólnyi porphyropsint kell tartalmaznia. Mivel egy anyag mólnyi mennyiségében 6,02 · 10^{23} molekula van, a pálcikára eső látófesték mennyisége 1,84 · 10^9 molekula. Feltéve, hogy a látófesték az előbb említett micellákban lokalizálódik, az egy micellára eső porphyropsin molekulák száma 1,84 · 10^9 : 35 · 10^6 = kb. 50. A micella köbtartalmából, az átlagos fehérjesűrűséget véve alapul kiszámíthatjuk a micella tömegét (2,7 mill gm/mól), az egy molekulára eső súly tehát kb. 54 000. Ez az érték nagyon jól megfelel a porphyropsinra egyéb módszerekkel kapott molekulasúlynak.

Teljesen tisztázatlan még az a kérdés, hogy hogyan továbbítódik a látófesték által adszorbeált energia valamilyen más, az ingerületkeletkezés és továbbítás szempontjából fontos struktúrára. Meg kell keresni még tehát azt a láncszemet, mely a fényenergia adszorbciója és a sejthártya depolarizációja közé esik. Bármilyen úton zajlik is ez le (exciton-vándorlás? elektronvándorlás?), megdöbbentő a szerkezet érzékenysége: kimutatható, hogy már egyetlen fénykvantum ingerületbe tudja hozni a fotoreceptor struktúrát.

IRODALOM

Bradke, D. L.: A unique invertebrate photoreceptor. „Electron Microscopy", Vth Internat. Congr. for E. M., Philadelphia, R 5, Acad. Press, New-York—London, 1962.

Brown, P. K., Gibbons, I. R. és Wald, G.: The visual cells and visual pigment of the mudpuppy, *Necturus*. J. Cell Biol. **19,** 79—106 (1963).

Brökelmann, J. és Fischer, A.: Nem közölt adatok (1963).

Carasso, N.: Étude au microscope électronique de la morphogenese du segment externe des cellules visuelles chez le Pleurodele. C. R. Acad. Sci. (Paris) **248,** 3058—3060 (1959).

Carasso, N.: Role de l'ergastoplasme dans l'élaboration du glycogene au cours de la formation du „paraboloid" des cellules visuelles. C. R. Acad. Sci. (Paris) **250,** 600—602 (1960).

de Robertis, E.: Morphogenesis of the retinal rods. J. Biophys. Biochem. Cytol. Suppl. **2,** 209—218 (1956).

Dodt, E. és Heerd, E.: Mode of action of pineal nerve fibers in frogs. J. Neurophysiol. **25,** 405—429 (1962).

Eakin, R. M. és Wetfall, J. J.: Fine structure of the retina in the reptilian third eye. J. Biophys. Biochem. Cytol. **6,** 133—134 (1959).

Eakin, R. M. és Westfall, J. A.: Further observations on the fine structure of the parietal eye of lizards. J. Biophys. Biochem. Cytol. **8,** 483—499 (1960).

Eakin, R. M.: Photoreceptors in the amphibian frontal organ. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **47,** 1084—1088 (1961).

Eakin, R. M. és Westfall, J. A.: The development of photoreceptors in the stirnorgan of the treefrog, *Hyla regilla*. Embryologia **6,** 84—98 (1961).

Eakin, R. M. és Westfall, J. A.: Fine structure of photoreceptors in amphioxus. J. Ultrastructure Res. **6,** 531—539 (1962).

Eakin, R. M. és Westfall, J. A.: Fine structure of photoreceptors in the hydromedusan, *Polyorchis penicillatus*. Proc. Natl. Acad. Sci. (Wash.) **48,** 826—833 (1962).

Eakin, R. M., Quay, W. B. és Westfall, J. A.: Cytological and cytochemical studies on the frontal and pineal organs of the treefrog, *Hyla regilla*. Z. Zellforsch. **59,** 663—683 (1963).

Eakin, R. M. és Westfall, J. A.: Further observations on the fine structure of some invertebrate eyes. Z. Zellforsch. **62,** 310—332 (1964).

Eakin, R. M. és Westfall, J. A.: Fine structure of the eye of a chaetognath. J. Cell Biol. **21,** 115—132 (1964).

Fahrenbach, W. H.: The fine structure of a nauplius eye. Z. Zellforsch. **62,** 182—197 (1964).

Fernández-Morán, H.: Fine structure of the light receptors in the compound eyes of insects. Exp. Cell Res., Suppl. **5,** 586—644 (1958).

GOLDSMITH, H.: Fine structure of the retinulae in the compound eye of the honey-bee. J. Cell Biol. **14,** 489—494 (1962).

GOLDSMITH, H. és PHILPOTT, D. E.: The microstructure of the compound eyes of insects. J. Biophys. Biochem. Cytol. **3,** 429—440 (1957).

HANSEN, K.: Elektronenmikroskopische Untersuchung der Hirudineen-Augen. Zool. Beitr., N. F. **7,** 83—128 (1962).

KHALLAF, K. T.: Electron microscopy of the compound eye of the housefly *(Calliphora vicina).* Mikroskopie, **13,** 206—210 (1958).

MILLER, W. H.: Morphology of the ommatidia of the compound eye of Limulus. J. Biophys. Biochem. Cytol. **3,** 421—428 (1957).

MILLER, W. H. és WOLBARSHT, M. L.: Neural activity in the parietal eye of a lizard. Science, **135,** 316—317 (1962).

MOODY, M. F. és ROBERTSON, J. D.: The fine structure of retinal photoreceptors. J. Biophys. Biochem. Cytol. **7,** 87—91 (1960).

NILSSON, S. E. G.: An electron microscopic classification of the retinal receptors of the leopard frog *(Rana pipiens).* J. Ultrastr. Res. **10,** 390—416 (1964).

NISHIOKA, R. S., HAGADORN, I. R. és BERN, H. A.: Ultrastructure of the epistellar body of the Octopus. Z. Zellforsch. **57,** 406—421 (1962).

RÖHLICH, P. és TÖRÖK, L. J.: Photoreceptor structures in the planarian eye and their morphogenesis during regeneration. Proc. Europ. Reg. Conf. E. M., Delft, 1960, 822—826.

RÖHLICH, P. és TÖRÖK, L. J.: Elektronenmikroskopische Untersuchung des Auges von Planarien. Z. Zellforsch. **54,** 362—381 (1961).

RÖHLICH, P.: Formation of the brush border by fusion of vesicles. „Electron microscopy", Vth Internat. Congr. E. M., Philadelphia, LL 5, Acad. Press New-York—London, 1962.

RÖHLICH, P. és TÖRÖK, L. J.: A vízibolha *(Daphnia magna)* összetett szemének elektronmikroszkópos vizsgálata. Előadás a Biol. Társ. Ált. Biol. Szakoszt. ülésén (1962).

RÖHLICH, P. és TÖRÖK, L. J.: Die Feinstruktur des Auges der Weinbergschnecke, *Helix pomatia* L. Z. Zellforsch. **60,** 348—368 (1963).

RÖHLICH, P. és TÖRÖK, L. J.: Elektronenmikroskopische Beobachtungen an den Sehzellen des Blutegels, *Hirudo medicinalis* L. Z. Zellforsch. **63,** 618—635 (1964).

SCHWALBACH, G., LICKFELD, K. G. és HAHN, M.: Der mikromorphologische Aufbau des Linsenauges der Weinbergschnecke *(Helix pomatia* L.) Protoplasma (Wien) **56,** 242—273 (1963).

SCHMIDT, W. J.: Doppelbrechung, Dichroismus und Feinbau des Aussengliedes der Sehzellen vom Frosch. Z. Zellforsch. **22,** 485 (1934—1935).

SIDMAN, R. L.: The structure and concentration of solids in photoreceptor cells studied by refractometry and interference microscopy. J. Biophys. Biochem. Cytol. **3,** 15—30 (1957).

SJÖSTRAND, F. S.: The ultrastructure of the outer segments of rods and cones of the eye as revealed by the electron microscope. J. Cell. Comp. Physiol. **42,** 15—44 (1953).

STEYN, W.: Observations on the ultrastructure of the pineal eye. J. Roy. Micr. Soc. **79,** 47—58 (1960).

STROTHER, G. K. és WOLKEN, J. J.: Absorption spectra of colored oil globules in the chicken retina. Exp. Cell Res. **21,** 504—512 (1960).

TOKOYASHU, K. és YAMADA, E.: The fine structure of the retina studied with the electron microscope; IV. Morphogenesis of outer segments of retinal rods. J. Biophys. Biochem. Cytol. **6,** 225—230 (1959).

UCHIZONO, K.: The structure of possible photoreceptive elements in the sixth abdominal ganglion of the crayfish. J. Cell Biol. **15,** 151—154 (1962).

VAUPEL-v. HARNACK, M.: Über den Feinbau des Nervensystems des Seesternes *(Asterias rubens)* III. Mitt. Die Struktur der Augenpolster. Z. Zellforsch. **60,** 432—451 (1963).

WADDINGTON, C. H. és PERRY, M. M.: The ultra-structure of the developing eye of Drosophila. Proc. Roy. Soc. (London), Ser. B. **153,** 155—178 (1960).

WOLKEN, J. J.: Photoreceptor structures. I. Pigment monolayers and molecular weight. J. Cell. Comp. Physiol. **48,** 349—370 (1956).

WOLKEN, J. J.: Retinal structure. Mollusc cephalopods: octopus, sepia. J. Biophys. Biochem. Cytol. **4,** 835—838 (1958).

WOLKEN, J. J., CAPENOS, J. és TURANO, A.: Photoreceptor structures. II. *Drosophila melanogaster.* J. Biophys. Biochem. Cytol. **3,** 441—448 (1957).

WOLKEN, J. J., MELLON, A. D. és CONTIS, G.: Photoreceptor structures. II. *Drosophila melanogaster* J. exp. Zool. **134,** 383—410 (1957).

ZONANA, H. V.: Fine structure of the squid retina. Bull. Johns Hopk. Hosp. **109,** 185—206 (1961).

IDEGSEJTEK ORGANELLUMAI ÉS IDEGVÉGZŐDÉSEK

HÁMORI JÓZSEF

Budapesti Orvostudományi Egyetem Anatómiai Intézete

Az idegsejtek az inger felvételére, továbbítására és az ingerület más sejtnek történő átadására specializált sejtféleségek. Az elmúlt 20 esztendő, rohamos methodikai fejlődése — és elsősorban a microelectroda technika bevezetése és széles körű alkalmazása — lehetővé tette, ezen elemi, idegi funkciónak sejtdimenzióban történő vizsgálatát. Így például lehetővé vált „egyedi" gátló és serkentő synapsisok ingerületátviteli mechanizmusának megfigyelése, az ingerületvezetést befolyásoló tényezők egy idegroston, szinte már quantumfizikai szinten történő tanulmányozása stb. (Nem lehet véletlen, hogy az 1963-as évi orvosi Nobel-díjasai mindhárman e szűkebb szakterület művelői közül kerültek ki.) A legjelentősebb eredmények egyike az, a főként BULLOCK [1] nevéhez fűződő felismerés, hogy az idegsejt egyes területei, sejtmembrán részletei elektrofiziológiai viselkedésük alapján nagy különbséget mutathatnak az inger felvétele, feldolgozása, továbbítása szempontjából, más szóval az idegsejtnek különböző qualitású locusai vannak. Vagyis az idegsejt igen finom, az "all or none" törvény által eddig kizártnak tartott reakciókra is képes, az idegsejt nem a kettes számrendszerben (0—1, igen-nem), hanem annál jóval szélesebb skálában működik. Ugyancsak jelentősek ECCLES és iskolája [2] elektrofiziológiai vizsgálatai a serkentő és gátló synapsisokra vonatkozóan, és az a törekvés, hogy az elemi gátlás funkcionális jellemzőit esetleges strukturális különbségekkel hozzák összefüggésbe. Mi is feltehetünk néhány olyan kérdést, melyekre választ főként morfológiai vizsgálómódszerek alkalmazása révén kaphatunk. Például: Van-e strukturális különbség gátló és serkentő synapsis között? Milyen egyéb, pl. topografiai különbségek játszhatnak szerepet az ellentétes funkcióban? Strukturális különbségek adrenergiás és cholinergiás végződések között? Eltérés a kémiai és elektromos synapsis szerkezete között? Milyen sejtorganellumhoz köthető a kémiai mediator? A sejtmembránnak vannak-e, — a BULLOCK-elmélet alapján kell lenni! — morfológiailag elkülöníthető locuszai? Általában: melyek azok a speciális idegsejt organellumok, amelyek a magasan differenciált funkcióban szerepet játszanak? Mint a későbbiekben látni fogjuk, ilyenek elég nagy számban találhatók, elsősorban az idegsejtek nyúlványaiban, valamint a végződésekben, de gyakran

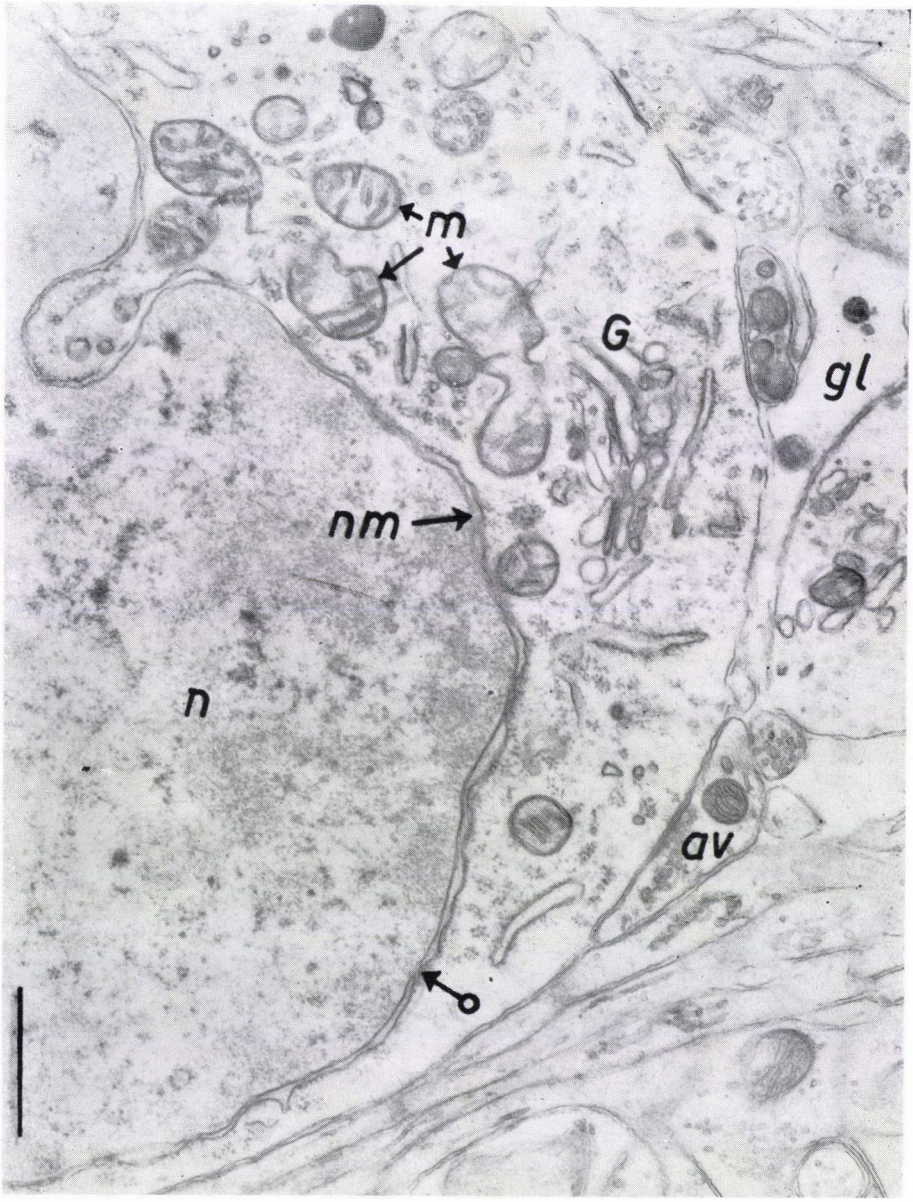
a perikarionban is. Ezt megelőzőleg azonban néhány olyan sejtorganellumról szólunk röviden, melyek ugyan nemcsak speciálisan az idegsejtben találhatók meg, de amelyek — közvetve — fontos szerepet játszhatnak az idegtevékenység kialakításában és fenntartásában.

Mag

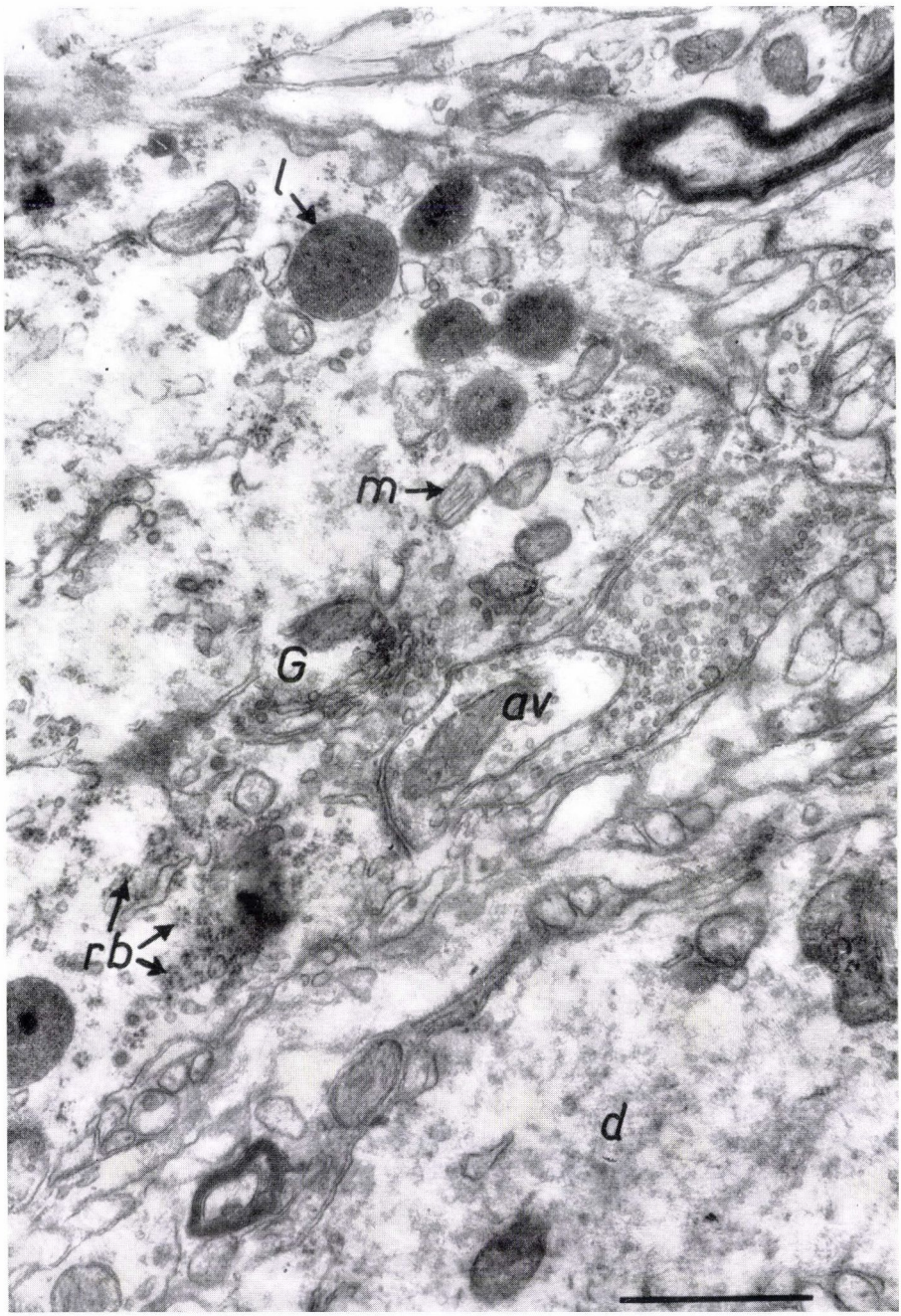
Viszonylag igen nagyok. A DNS a „nyugvó" magban (a kialakult idegsejtnél mitosist csak elvétve figyeltek meg) homogén eloszlású (1. ábra). Adequat ingerre azonban igen érzékenyen reagál, mely már fénymikroszkóposan is jól lemérhető zsugorodásban — és egyben DNS aggregátumok kialakulásában — vagy megnagyobbodásában mutatkozik meg. A magtérfogat változást regisztráló, ún. magvariációs test-et általánosan használták és részben még ma is használják, pl. a neuroendokrin kutatásoknál, olyan epi- s főleg hypothalamikus szürkeállományok vizsgálatára, melyek az egyes trophormonok idegi szabályozási központjai [3].

Ergastoplasma

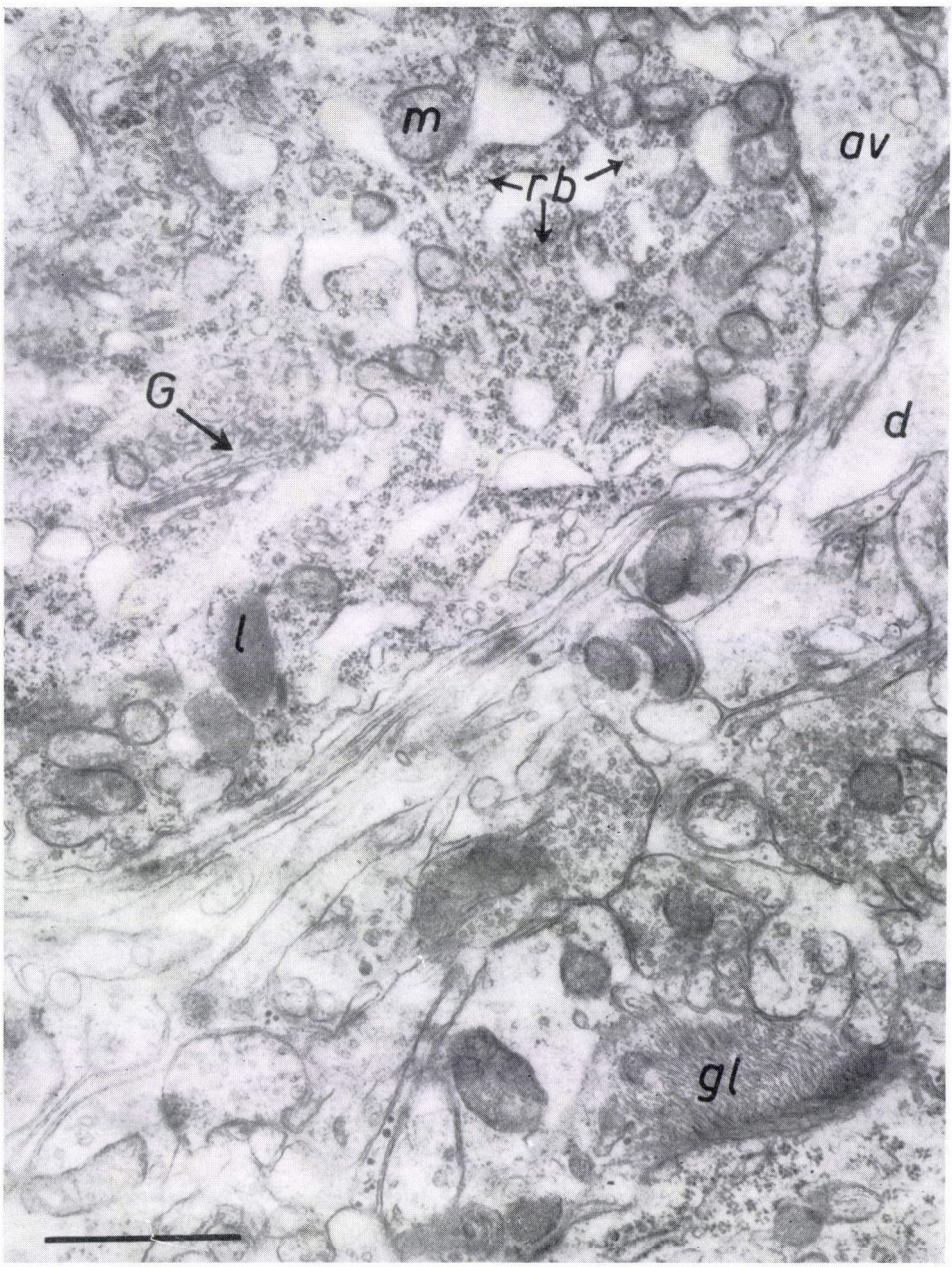
A korábban tigroidnak (Nissl-substantia) nevezett bázikus festődésű anyag azonos a ribonucleoproteidekkel, mely az endoplasmás reticulumon helyet foglaló szemcsékben lokalizálódik. Ezen ún. granuláris ergastoplasma a magnál is élénkebben reagál bizonyos idegi impulzusok jelenlétére vagy hiányára. Erre vonatkozólag szabad legyen csak egy példát felhoznom. A hypothalamus nucleus ventromedialisában mellékveseirtás után sejtmagnagyobbodás volt megfigyelhető [4]. Az effektus tisztán idegi eredetű, minthogy kívülről bevitt kéreghormonokkal fiziológiás szinten tartott hormonmilieu-ben is létrejött. Ezt bizonyítja az is, hogy féloldali mellékveseirtás után megnagyobbodás az ellenoldali nucleus ventromedialisban volt csak tapasztalható, míg az azonos oldaliban a sejtmagok zsugorodtak. Tehát keresztezett idegi effektusról van szó, melynél az elülső lebeny ACTH termelését szabályozó nucleus ventromedialis direkt afferentáció révén értesül a mellékvese mindenkori működési állapotáról. (Csak mellékesen megjegyezve, minden valószínűség szerint olyan receptorokról van szó, melyek a mellékvesetok feszülési állapotát regisztrálják.) Elektronmikroszkópos felvételeink szerint (2—3. ábrák) mellékveseirtás után a nucleus ventromedialis idegsejtjeiben az ergastoplasma a kontrollhoz viszonyítva erősen aktivizálódik, az RNS szemcsék mennyisége megnövekszik, az endoplasmás reticulum kiterjedtebb lesz. — Hyden [5] kombinált biokémiai és UV-hisztofotometriás analysissel kimutatta, hogy az idegsejt RNS-e már igen rövid, néhány másodperces ingerlés után nagyfokú qualitativ és quantitativ változásokon megy át. Hydén szerint ez az igen gyors, bár finom változás a sejt ribonucleoproteidjében a



1. ábra. Idegsejt („csillag")-sejt a kisagykéreg molekuláris rétegéből. A magban a chromatin eloszlása viszonylag homogén. *n* = mag; *nm* = kettős maghártya; *G* = Golgi apparatus; *m* = mitochondrium; *av* = axonvégződés a somán; *gl* = glianyúlvány. A nyíl a maghártyán található pórusra mutat



2. ábra. Idegsejt a hypothalamus nucleus ventromedialisából. Közepes aktivitású ergastoplasma. A ribosomák rozettákba rendeződnek, viszonylag kis mennyiségben találhatók. *rb* = ribosoma; *G* = Golgi apparatus; *l* = lysosoma; *m* = mitochondrium; *av* = axosomatikus idegvégződés; *d* = dendrit



3. ábra. Idegsejt ugyancsak a nucleus ventromedialisból, de 3 nappal mindkétoldali adrenalectomia után. Feltűnő az ergastoplasma aktiválódása, amit a ribosoma rozettás nagy alakú megszaporodása is jelez. *gl* = glianyúlvány; *rb* = ribosoma; *G* = Golgi apparatus; *l* = lysosoma; *m* = mitochondrium; *av* = axosomatikus idegvégződés; *d* = dendrit

fehérjeszintézis bizonyos fokú megváltozását is maga után vonja. Igen eredeti módon kapcsolja össze a fehérjeszintetizáló RNS nagyfokú változékonyságát és reakciókészségét a memoriával, illetve tanulással. Bár a HYDÉN memoriateória még távolról sem bizonyított, mindenképpen figyelemre méltó, mint olyan kísérlet, mely a tanulást és emlékezést egy raktározó, mégis igen reakcióképes substratummal hozza kapcsolatba.

Golgi apparatus

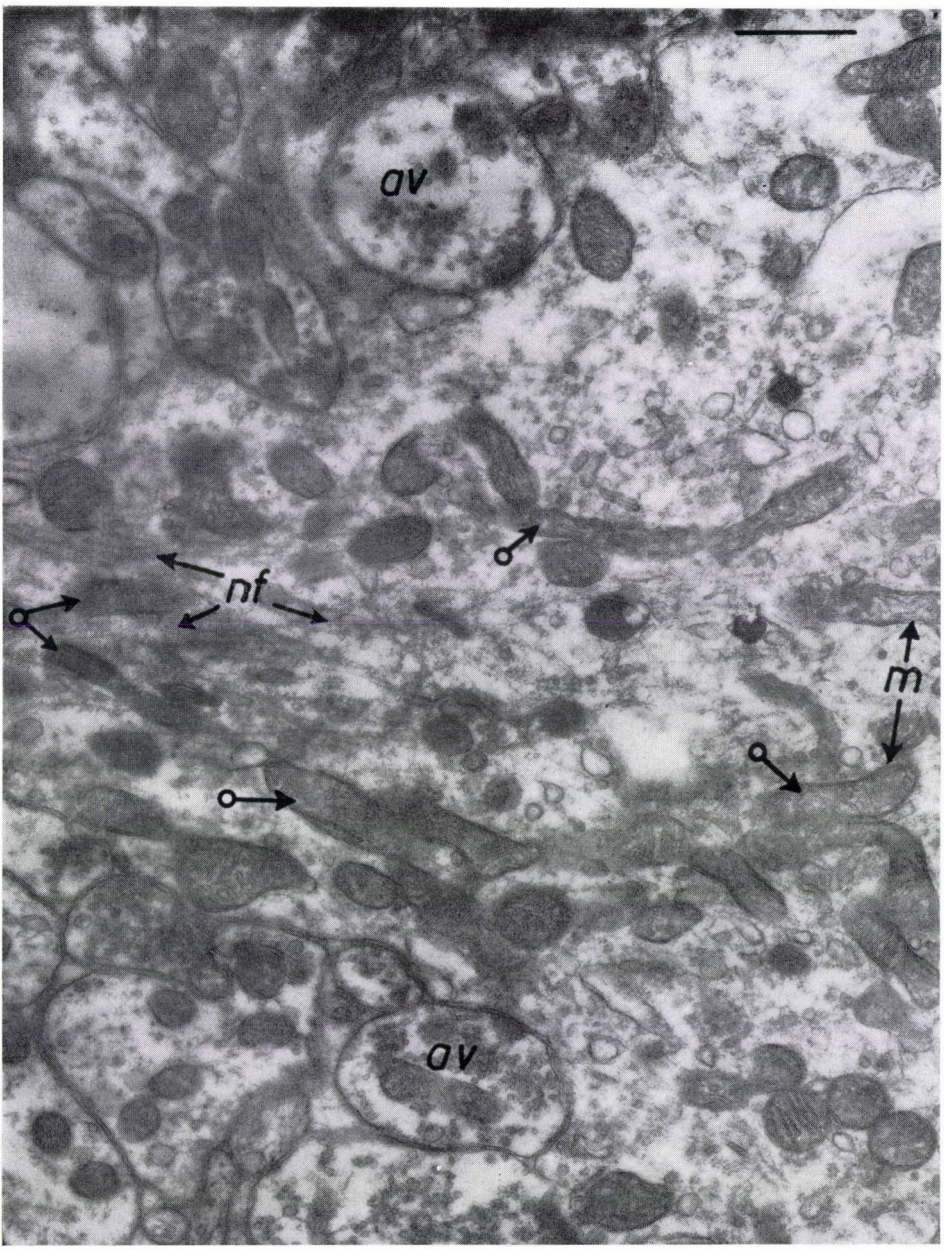
A Golgi apparatus, melyet általában a secretio központjának tartanak, itt speciális funkciót kap: nagy valószínűséggel itt termelődnek [6] az ún. dense-core vesiculáknak nevezett és bizonyos kémiai mediátort tartalmazó, tehát a synaptikus ingerületátvitelben lényeges szerepet játszó organellumok.

Mitochondriumok

Főként a magkörüli sejtrészben, az ún. perikarionban és az idegvégződésekben találhatók nagy számban. Újabb vizsgálatok szerint az idegsejtnek olyan organelluma, mely a neuroplasmával együtt vándorol az axonban egészen a végződésig (4. ábra). Valószínűleg ennek tudható be, hogy a végződésekben levő mitochondriumokban általában kevesebb a crista és kisebb az osmiophilia, mint a perikarionban, vagy a dendritekben található mitochondriumok esetében, vagyis már degenerálódófélben levő mitochondriumokról lenne szó, bár az sem teljesen kizárható, hogy a ritka cristás mitochondriumok a végződésekben a fehérjeszintézisre specializált organellumok [7] (az axonban és a végződésekben RNS vagy ergastoplasma nincs). Hogy energiaszolgáltató jellegüket még ilyen elhelyezkedésben is megtartották (bár pH változásokra jóval érzékenyebbek, mint a perikarion mitochondriumai [8]), azt hisztokémiailag sikerült demonstrálni. A sejtekben, illetőleg dendritekben levő mitochondriumok igen érzékenyen reagálnak a rajtuk végződő idegrost sérülésére, vagy kísérletes átvágására. Három-négy nappal a tractus spinocerebellarisok (melyek mint moharostok végződnek a kisagy szemcsérétegében) átmetszése után a szemcsesejtek dendritjeiben a mitochondriumok megnagyobbodnak és jóval erősebben festődnek osmiummal, mint normális esetben (5. ábra).

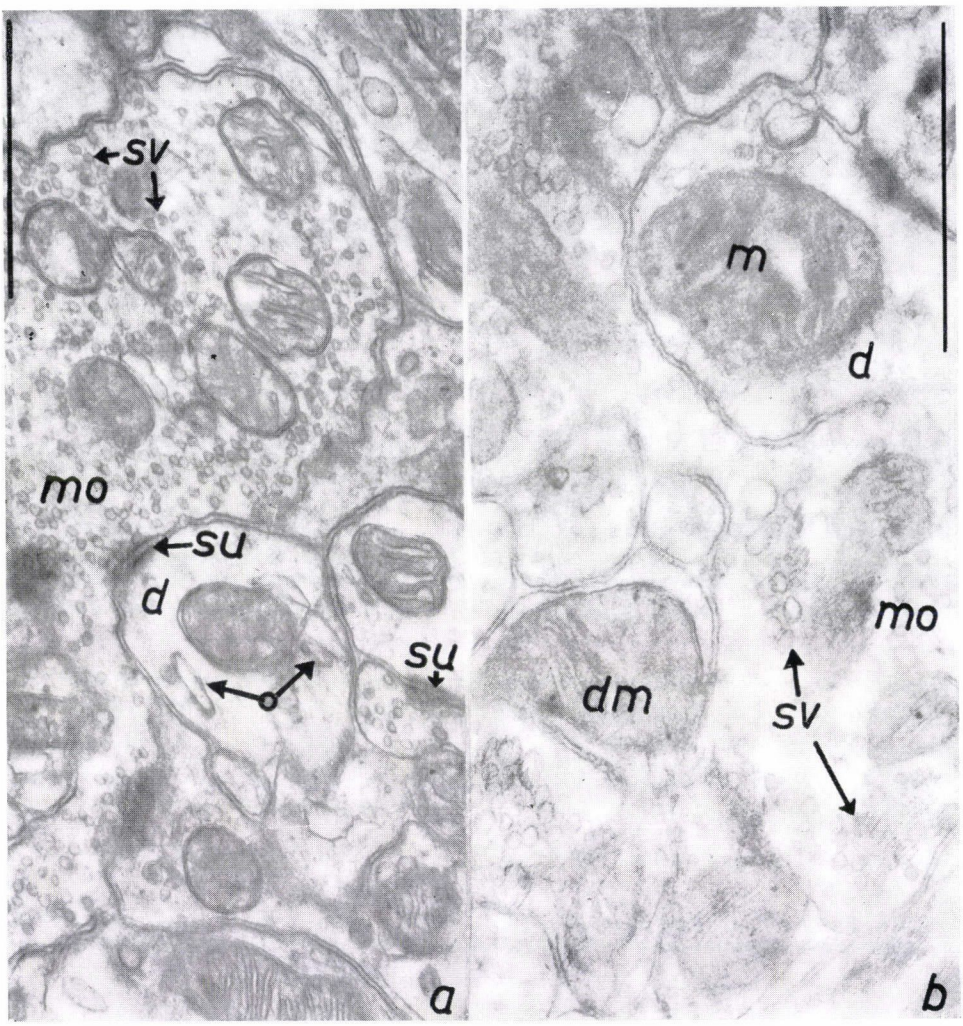
A továbbiakban áttérünk néhány, az idegsejtekre speciálisan jellemző organellum ismertetésére. Ezek részben az idegingerület vezetésével, részben az ingerület átadásával hozhatók kapcsolatba, ennek megfelelően az idegrostban (vezetés), az idegvégződésekben (pre-synapsis), illetve dendritekben vagy perikarionban (post-synapsis) találhatók meg.

Az axonra vagy neuritre nagyon jellemző organellumok a *neurofilamentumok*. Ezek kb. 100 Å vastag longitudinalis fonalak, melyek szétszórtan, de még gyakrabban kötegekben helyezkednek el. Már az axon eredő részén



4. ábra. Axoneredés fiatal csirke ggl. ciliare idegsejtjéből. A mitochondriumok az eredő részben már párhuzamosak az axon hossztengelyével (nyilak). A mitochondriumok között neurofilamentumok (*nf*) láthatók

megtalálhatók a sejtben. Közöttük — mint az a 4. ábrán is jól látható — ugyancsak a hosszanti, tehát vándorlási irányba elhelyezkedett mitochondriumok találhatók. Az ún. neurofibrilláris festékek, nehézfémek (elsősorban az ezüst) az ezek összecsapódásából létrejött, tehát művi neurofibrillákat mutatják ki. Ilyenek azonban az élő és működő rostban nincsenek — csupán az előbb is



5a ábra. Glomerulus részlet kisagykéregből. A moharostvégződésekben (*mo*) levő mitochondriumok gyengébben festődnek, mint a szemcsesejtdendrit (*d*) mitochondriumai. A dendrit-mitochondriumok körül jellegzetes vacuolizáltság (nyilak) látható. *sv* = synaptikus vesicula; *su* = synaptikus érintkezés a dendrit és moharostvégződés között

5b ábra. Kisagy-glomerulus részlet 4 nappal a tr. spinocerebellarisok átvágása után. A moharostvégződésben a degeneráció jelei láthatók; a synaptikus vesiculák felpuffadnak, s kisebb csoportokba rendeződnek. Feltűnő a dendrit-mitochondriumok erős megnagyobbodása és a kifejezett osmiofilia növekedés. A perimitochondriális vacuolumok eltűntek

demonstrált filamentumok az egyedüli hosszanti stuktúrái az axonnak. Régebben az idegingerület vezetést a neurofilamentumoknak tulajdonították. Bár ma általánosan elfogadott az ingerületvezetés membránelmélete, bizonyos közvetett szerepet a vezetésben a filamentumok is játszhatnak. MÜLLER [9] vizsgálatai szerint az axonban olyan hosszanti finom struktúráknak kell lenniök, melyek nagy iongyűjtő kapacitással rendelkezvén, felelősek az ún. polarizációs ellenáram keletkezéséért. Mai tudásunk szerint — ha eltekintünk a néhány speciális axonféleségben újabban talált neurotubulusoktól — a filamentumok az egyedüli hosszanti intraaxonikus képződmények. A Ranvier befűződéseknek megfelelően [10] az axonban más organellumok — multivesicularis testecskék, lipoidszemcsék, egyéb vesiculák — is találhatók. Ez annál is érdekesebb, mert myelinhüvelyes rostok saltatorikus ingerület vezetésénél a kálium nátrium ion-csere az axolemmán keresztül főként az axon nodális szakaszaiban történik.

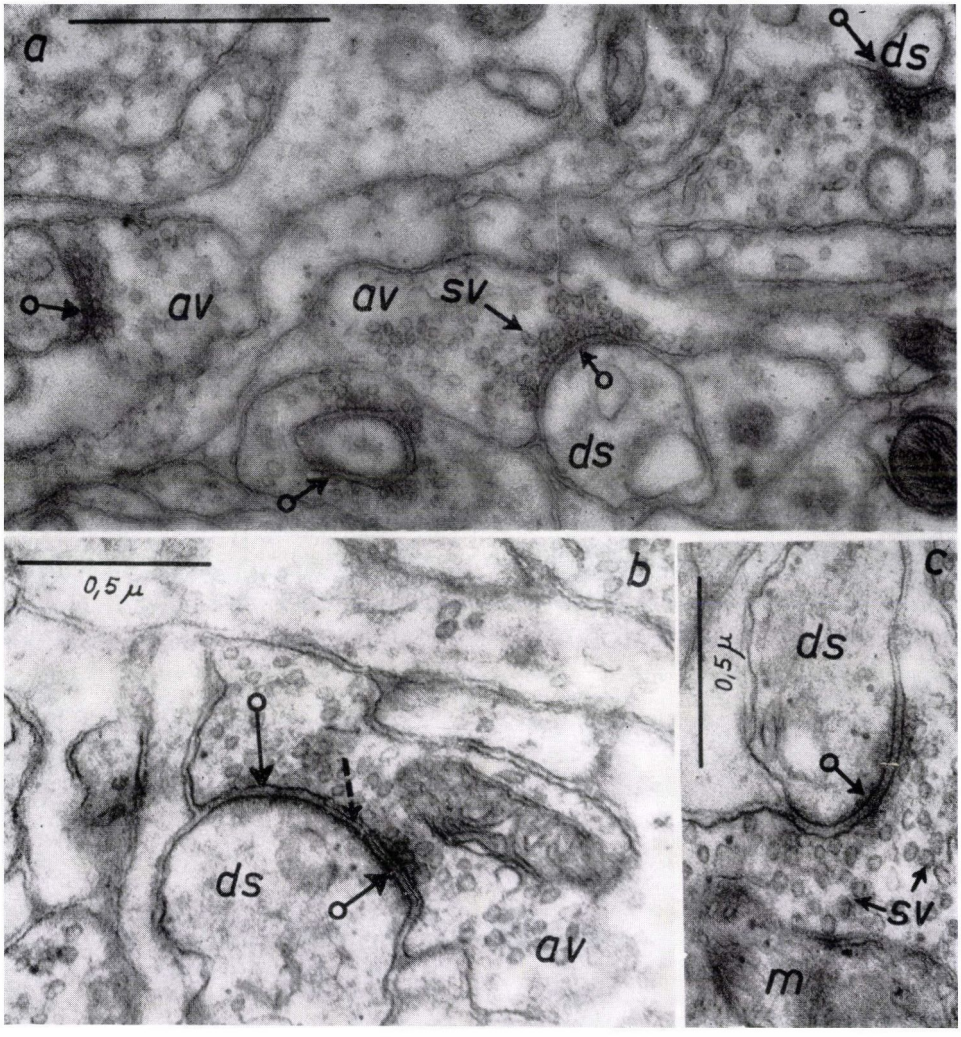
Synapsisok

Ezekben az idegingerület egy idegsejtről másik neuronra vagy más, pl. izomsejtre tevődik át.

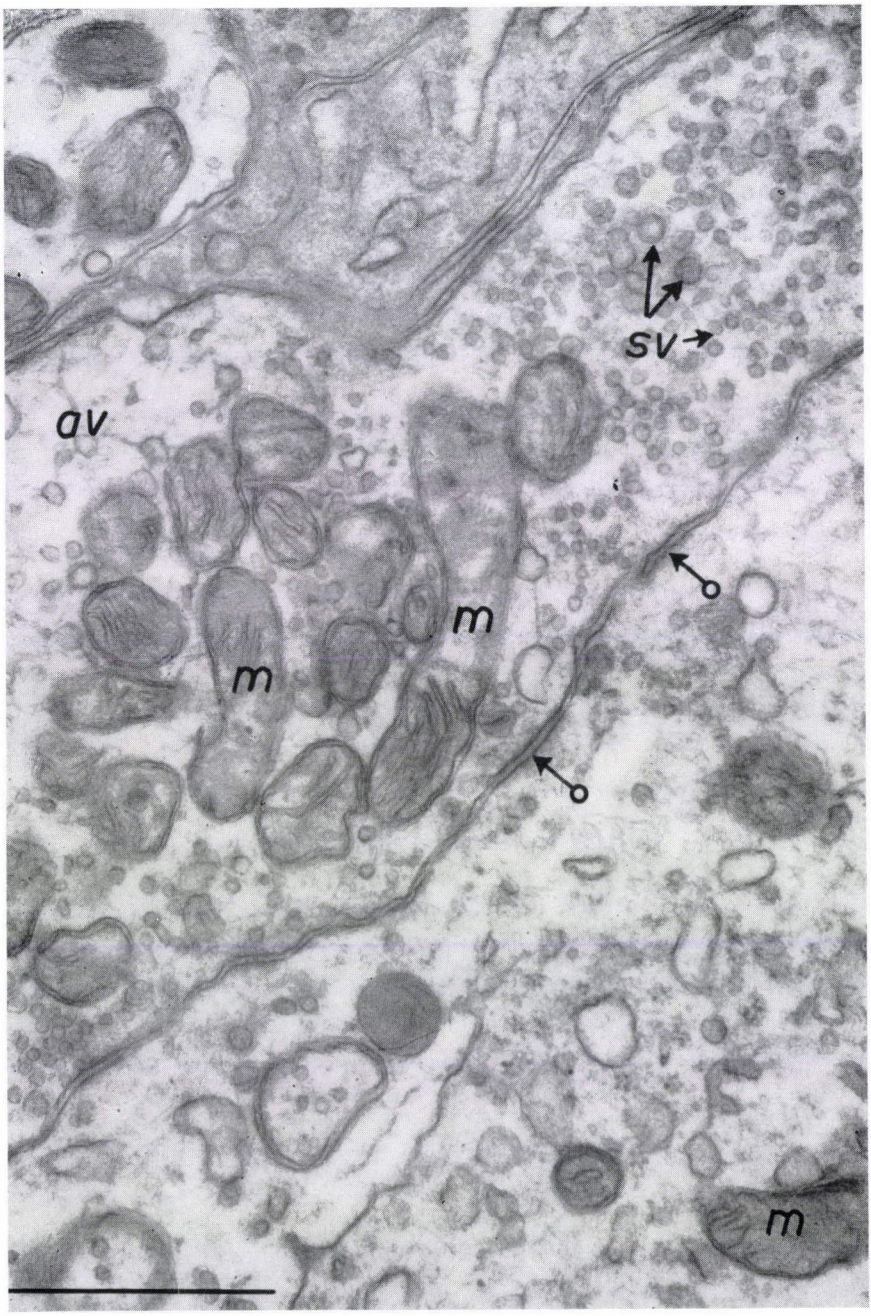
A synapsisok fő alkotóelemei a presynaptikus plasma, presynaptikus membrán, synaptikus rés, postsynaptikus membrán és postsynaptikus plasma. (Mindjárt előljáróban jegyezzük azonban meg, hogy e felosztás feltételezi a synapsisok egyirányú átjárhatóságát, ami az esetek túlnyomó többségénél igaz is. Vannak azonban olyan, kémiai mediáció nélkül, tisztán elektromos transmisszióval működő synapsisok is, melyek kétirányban átjárhatók [2] — ezekről még lesz szó az alábbiakban.

A presynaptikus plasma fő alkotóelemei a synaptikus vesiculumok, melyek az egész végződésben szétszórva megtalálhatók, de a synaptikus kontaktust jelző presynaptikus hártya megvastagodás mentén speciális felhalmozódást mutatnak (6. ábra). Helyenkint még a vesiculumok és presynaptikus hártya fúzióját is meg lehetett figyelni. A vesiculumok ezen presynaptikus-membrán aggregációját tekintik egyébként a valódi synapsis egyik legfőbb strukturális kritériumának. A vesiculumoknak több fajtája ismeretes. Legelterjedtebb a 300—500 Å átmérőjű, általában acetylcholin tartalmúnak vélt vesiculum. Agyszövetek differenciál-centrifugálással történő frakcionálását követő biokémiai vizsgálata és egyidejű elektronmikroszkópos megfigyelése azt bizonyította, hogy a „cholinerg" vesiculumok az esetek jelentős hányadában acetylcholint tartalmaznak [11]. Természetesen az, hogy a vesiculum acetylcholint tartalmaz — adataink vannak arra vonatkozóan is, hogy ez utóbbi nem szükségszerű — nem feltétlenül jelenti egyúttal a cholinerg mediációs mechanismus működését is. Csirke ganglion ciliare-ját vizsgáltuk [12], mely néhány nappal a kikelés után még részben kémiai, részben

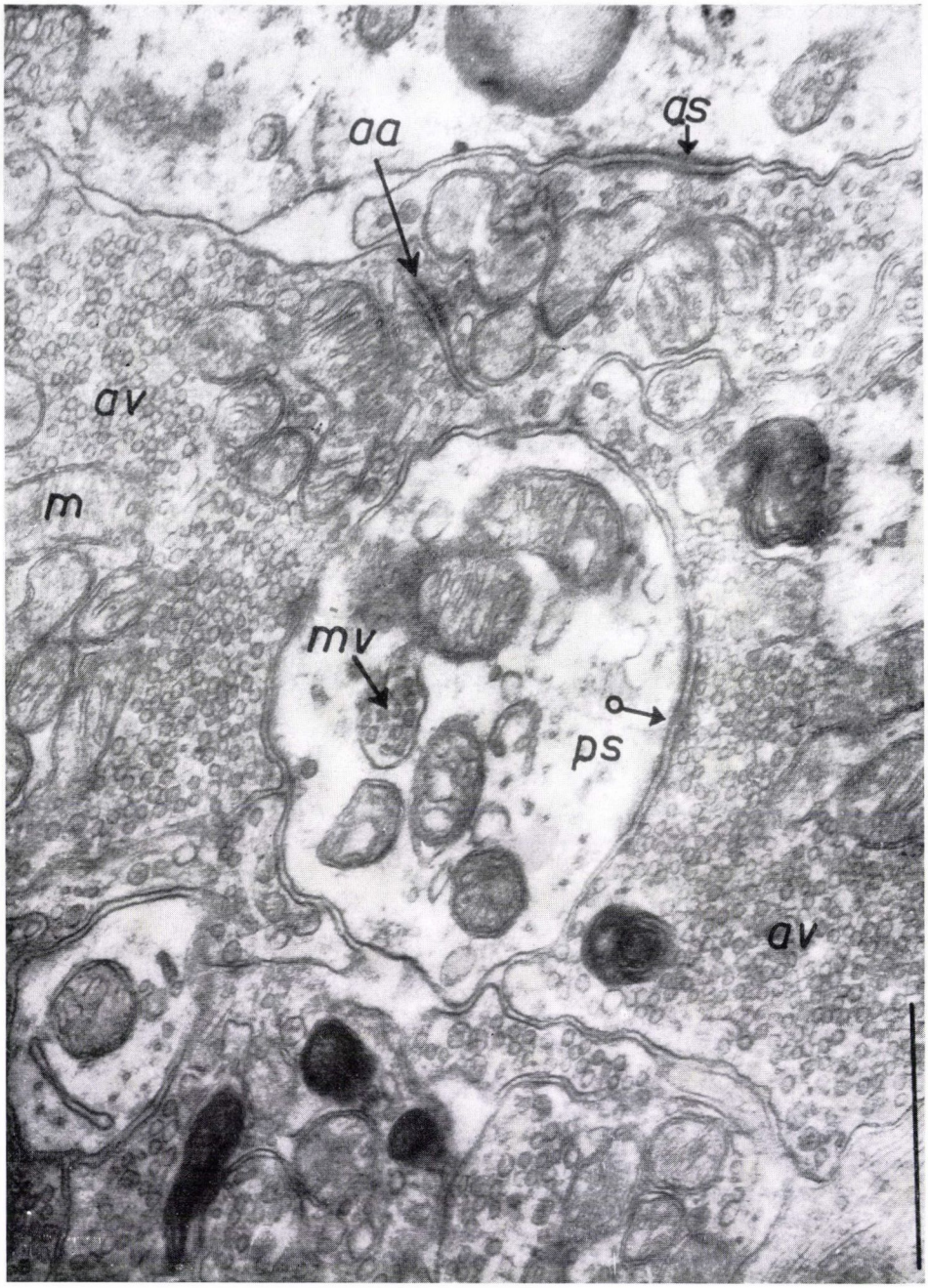
elektromos transmisszióval működik (7. ábra). Néhány hetes korban azonban már az elektromos átvitel dominál; ennek ellenére az axonvégződésben a synaptikus vesiculumok nagymértékű felszaporodása figyelhető meg e korban (8. ábra). ROBERTSON [13] ugyancsak talált presynaptikusan vesiculum felhalmozódást (ha kisebb mértékűt is mint mi a csirke ganglion ciliare-jában) a Mauthner-sejtek axo-



6. ábra. Synapsisok a kisagy molekuláris rétegéből. A presynaptikus axonvégződés, *av* (parallelrost) dendritikus tüskékkel (*ds*) szinaptizál. A membránok e helyeken (nyilak) erősebben festődnek, az axonvégződésben synaptikus vesicula akkumuláció figyelhető meg közvetlenül a presynaptikus membrán alatt. A b és c képen nagyobb nagyítással jól látszik, hogy a postsynaptikus membrán erősebben festődik, mint a presynaptikus, s az is, hogy a rés tágabb (300 Å), mint a nem synaptikus érintkezési helyeken. A résben még egy kevésbé osmiofil réteg is van (szaggatott nyíl)



7. ábra. Synapsis 1 napos csirke ggl. ciliarejából. A hatalmas kehely alakú synapsis egy kis részlete látható; az axonvégződés és sejttest között csak desmosomoid megvastagodások (nyilak) vannak, a presynaptikus vesicula accumuláció a megvastagodások mentén hiányzik. A viszonylag kevés synaptikus vesicula nem egyforma, 250 Å-től 1000 Å-ig terjedő átmérővel

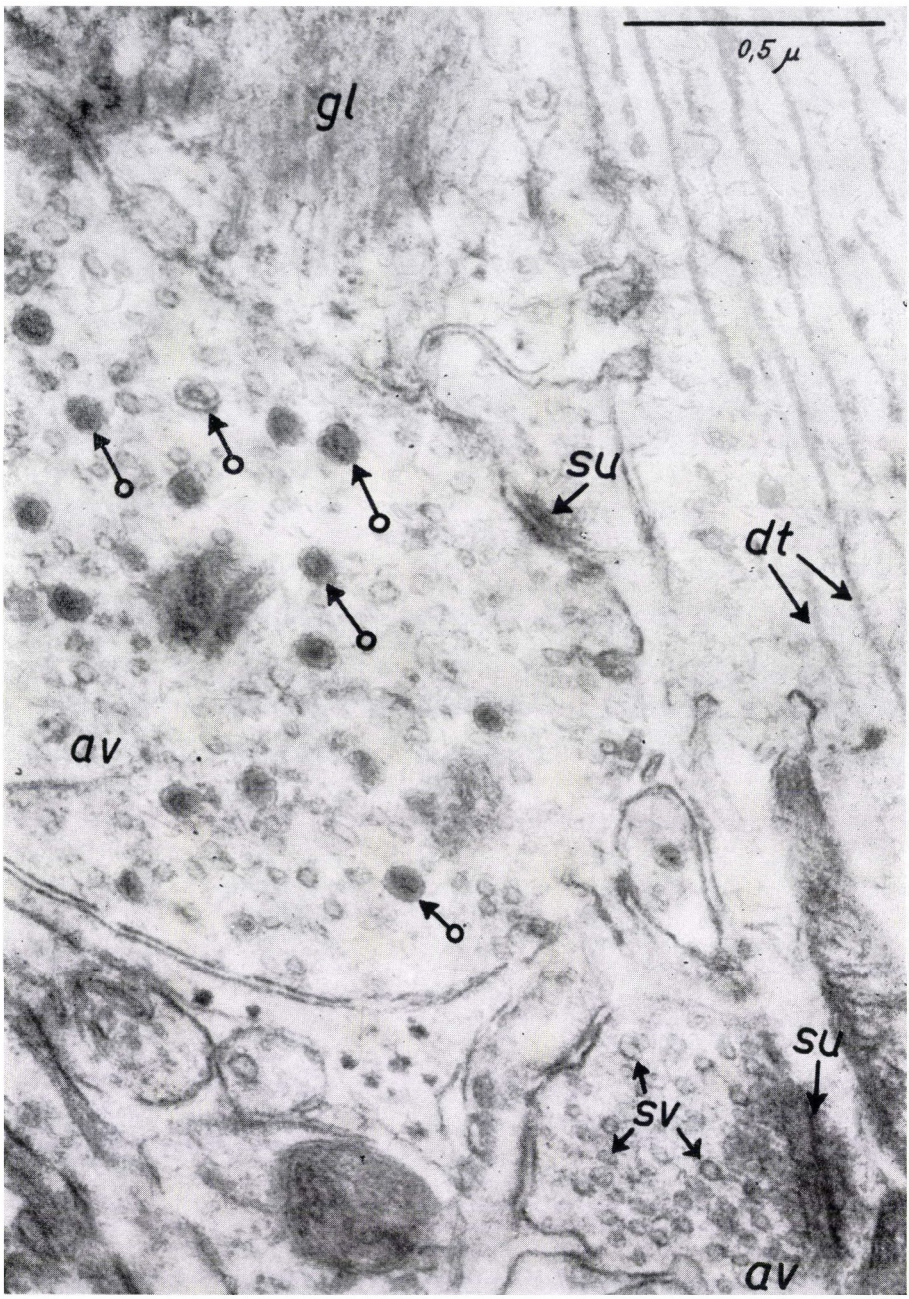


8. ábra. Synapsis tyúk ggl. ciliarejából. Az axonvégződés tele van egyforma, 300—500 Å-os synaptikus vesiculákkal és mitochondriumokkal. Specializált synaptikus érintkezés van a végződés és egy pseudodendrit (*ps*) között (nyíl), desmosomoid megvastagodások is találhatók: *as* = axosomatikus és *aa* = axoaxonikus. A rés ezeknél is 200 Å körül van. *mv* = multivesicularis test

axonikus gátló (elektromos) synapsisaiban. Ez már azért is különös, mert egy eléggé elterjedt elmélet szerint [14] e jelenség, vagyis a synaptikus vesiculumok aggregációja és a membrannal történő esetleges fúziója a vesiculumhoz kötött kémiai mediatornak a synaptikus résbe történő diffúziójával kapcsolatos. Hasonlóképpen 300—500 Å-ös vesiculumokat találhatunk a rovarok myoneurális synapsisaiban is [15] — e synapsisok ugyanakkor acetylcholint, vagy más cholinestert, de egyéb eddig ismert kémiai mediatort sem tartalmaznak. CURTIS [16] vizsgálatai szerint a kisagykéreg synapsisaiban az ingerületáttevődés ugyan kémiai mediációval történik, de biztosan nem acetylcholinnal. Ugyanakkor (5a, 10. ábrák) az itt található „presynapsisok" jelentős részében nagy mennyiségű (cholinerg) vesiculum volt megfigyelhető. Fenti adatok óvatosságra intenek, s eddigi nézeteink bizonyos revízióját követelik meg. A 300—500 Å-ös synaptikus vesiculumok ubiquiter előfordulása és a presynaptikus membráné hoz viszonyított azonos topografiája *minden* presynaptikus axonvégződésben ugyanis azt valószínűsíti, hogy kémiai mediator kötő kapacitásán kívül, mely egyébként is csak a bizonyítottan cholinergiás végződésekre vonatkozhat, egy ennél általánosabb funkcióval is kell a vesiculumoknak rendelkezniök. Hogy ez mi, arra vonatkozóan legfeljebb találgatásokra lehetnénk utalva. Egyet azonban érdemes megjegyezni. A synaptikus vesiculumok fala sejt-, tehát „unit"-membrán természetű; a vesiculumok gömb alakja optimális az intracelluláris membránfelület nagyobbítása szempontjából. Valóban, számítások szerint a vesiculumok által képezett membránfelület tízszerese is lehet az egész végződést kívülről beborító sejtmembránnak (axolemmának). —

A másik synaptikus vesiculumféleség az ún. dense-core vesiculum (9. ábra), mely 800—1200 Å átmérőjű, és elsősorban a vegetatív idegrendszer sejtjeiben található meg. Minthogy a vegetatív idegrendszerben a cholinergiás végződések mellett adrenergiásak is nagy számban szerepelnek, kézenfekvő volt a feltételezés, hogy a vesiculumok kötnék a noradrenalint vagy adrenalint. Valóban AXELROD és társai [17] H^3-adrenalin elektronmikroszkópos autografiájával kimutatták a vesiculumok adrenalinkötő képességét. Érdekes, hogy a vesiculumok rendszerint „cholinerg" (300—500 Å) vesiculákkal közösen fordulnak elő. Amennyiben utóbbi vesiculák valóban acetylcholint tartalmaznak, lehetőség nyílik KOELLE [18] a nem cholinergiás synapsisokban történő idegingerület átvitelre vonatkozó theoriájának alkalmazására. KOELLE úgy véli, hogy e synapsisokban az első mozzanat acetylcholin felszabadulása a presynaptikus végződésből. Ez a továbbiakban visszahatva magára a végződésre második lépésben váltaná ki a tulajdonképpeni mediátor felszabadítását. Meg kell azonban azt is mondani, hogy dense-core vesiculumokat nem adrenergiás synapsisokban is találtak.

Ugyancsak fenti, presynaptikus organellumokhoz sorolhatók a neurosekretoros szemcsék, melyek nemcsak a vérpályán, hanem az axonon keresztül



9. ábra. Axonvégződés macska hypothalamus nucleus ventromedialisából, mellékveseirtás után 3 nappal. Az axonvégződésben sok „dense-core" vesicula hamozódott fel (nyilak). *dt* = dendritikus tubulusok; *sv* = „normál" synaptikus vesiculák

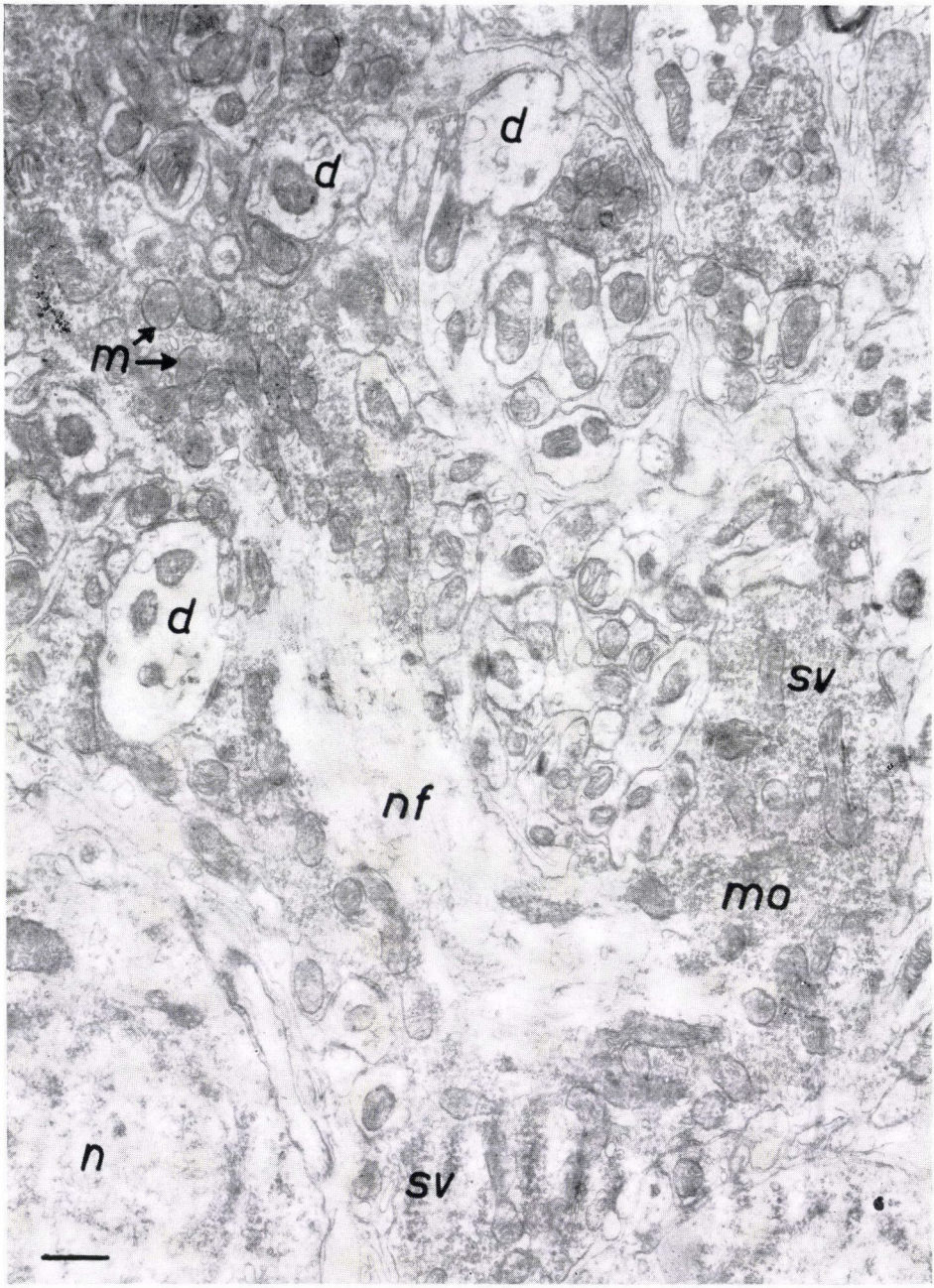
is vándorolhatnak egészen a végződésig. Kémiai mediációban játszott szerepük azonban ma még korántsem tisztázott.

A presynaptikus plasma fontos alkotórészei még a nagy számban fellelhető mitochondriumok (7, 8, 10. ábrák), melyek mint arról már az előbbiekben szó volt, a perikarionból vándorolnak le a végződésbe és nyilvánvalóan a végződés energiaellátásában szerepelnek — ezt igazolná erős cytochromoxidase aktivitásuk is [8] — bár egyéb szintetizáló (cholinacetylase) működésük sem teljesen kizárható.

Ugyancsak jól látható főleg nagyobb, bunkószerű végződéseknél, hogy a neurofilamentumok még a végződésekben is előfordulhatnak (10. ábra). Ilyen esetben a végződés centrumában találhatók kötegekbe rendeződve a kérgi lokalizációjú synaptikus vesiculumoktól borítva.

A *presynaptikus membrán* egység-membrán (unit membrane) s két, egyenként 20 Å vastag osmiophil és a kettő között elhelyezkedő, mintegy 35 Å-nyi osmiophob rétegből áll (11—13. ábrák). Osmium fixálás után megvastagodást mutathat, bár ez nem kötelező, mert pl. a harántcsíkos izomvégződés axon membrán megvastagodással nem rendelkezik. Az a korábbi elképzelés, hogy a kémiai mediátor a presynaptikus membrán „átszakítása" után kerülne a synaptikus résbe, túlságosan mechanisztikus és megerősítve sincsen — bár, mint említettük, a synaptikus vesiculumok a presynaptikus membránnal fuzionálhatnak is. Sokkal valószínűbb, hogy az acetylcholin molekuláris formában vándorol át a membránon. Ezt megerősíti Robertson [19] újabb eredménye is, mely szerint a synaptikus korong (mely a synapsisok némileg módosult formája a Mauthner-sejtnél) presynaptikus membránja a membrán lapjára merőleges, hexagonális elrendeződésű micellákból áll.

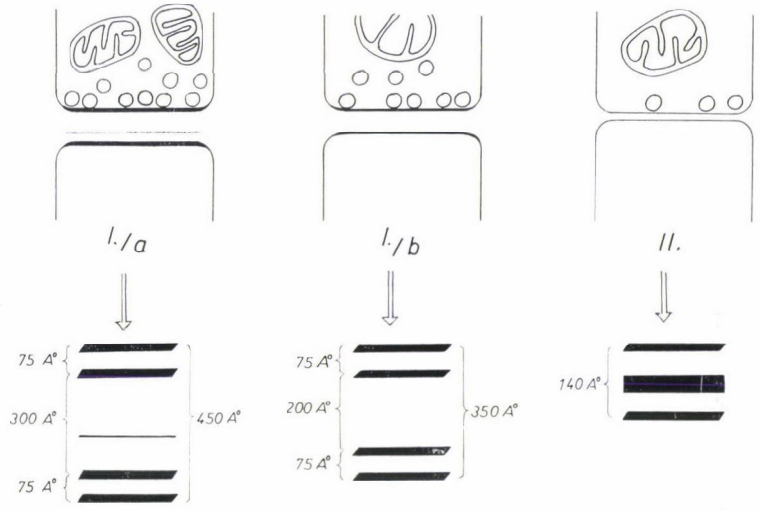
A pre- és postsynaptikus membrán közötti hasadék szélessége 70—600 Å között változhat, sőt extrém esetben, pl. a Robertson által leírt elektromos synapsisoknál, hol a két unit membran egy-egy 20 Å-öt rétege fuzionál, hiányozhat is. A gerincesek harántcsíkos izmaiban a neuromusculáris synaptikus rés vastagsága 600 Å. Itt azonban a két membrán közé még ún. basalis anyag is ékelődik, mely elektronmikroszkópos megfigyelések szerint a postsynaptikus membránnal együtt acetylcholinesterase aktivitást mutat [20]. Érdekes, hogy a legkeskenyebb, 70—120 Å rés ugyancsak myoneurális synapsisban található a rovaroknál, ott is a szárnyizomban és ezen izom funkcionális jellegzetességével, az igen magas frekvenciával hozható összefüggésbe. Idegsejtek közötti kémiai synapsisok esetében a rés általában 200 vagy 300 Å vastag. Mindkét typusnál egy filamentáris összekötőrendszer található a pre- és postsynaptikus membránok között, az utóbbinál egy gyengén osmiophil, ún. intermediaer zona figyelhető meg a résben, valamivel a postsynaptikus membránhoz közelebb. A synaptikus rés természetszerűleg folytonos az általában 200 Å-nyi intercelluláris hasadékkal, aminek az ioncsere, ionok és a kémiai mediátor diffúziója szempontjából van jelentősége. A synaptikus réssel folytonos inter-



10. ábra. Moharostvégződés kisagykéregben. A végződés közepén neurofilamentumok (*nf*) kötegben, a synaptikus vesiculák a végződés periferiáján koncentrálódnak

celluláris hasadék 800—1500 Å-ra is kitágulhat (12. ábra) — ezt magunk is megfigyelhettük fiatal csirkék ganglion ciliare-jának vizsgálatánál.

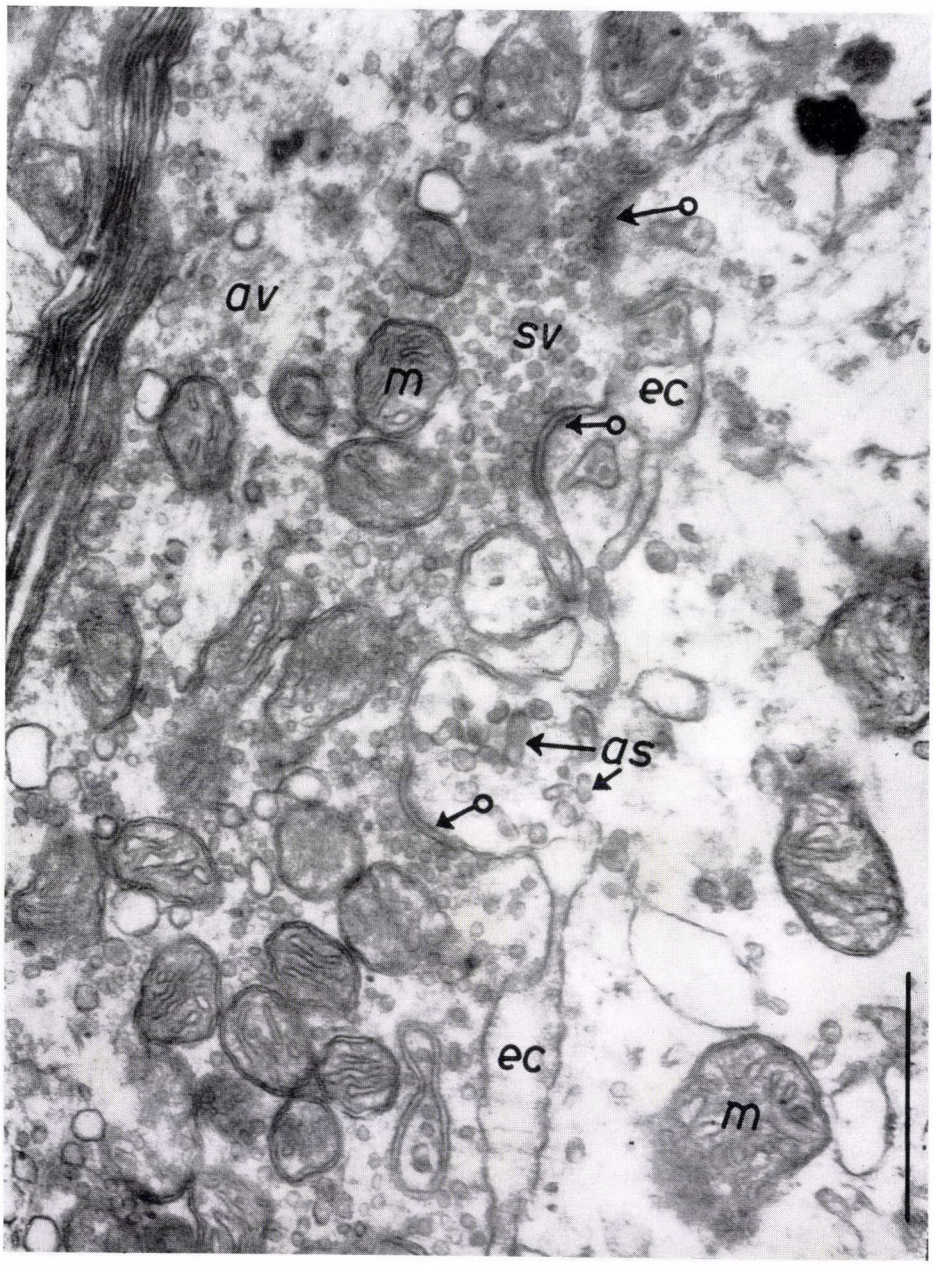
A *postsynaptikus membrán* ugyancsak megvastagodást mutat, rendszerint erősebbet mint a presynaptikus. Igen nagy feloldású képeken e megvastagodás a hártyára merőleges csíkoltságot mutat (mozaik-szerkezet?!). GRAY [21] a synapsisokat a megvastagodás jellege szerint két typusba sorolja. *a)* Legtöbb axodendritikus synapsis a cortexben — 300 Å synaptikus réssel és erős postsynaptikus hártyamegvastagodással. *b)* Axosomatikus és kevesebb axodendri-



11. ábra. Synapsisok sémás ábrája. Ia — Gray 1 típusú, főként axodendritikus kémiai synapsis. Ib — Gray 2-es, kémiai és II elektromos synapsis. Az ábra alsó felében a kinagyított synaptikus membrán és rés szerkezet látható. További magyarázat a szövegben

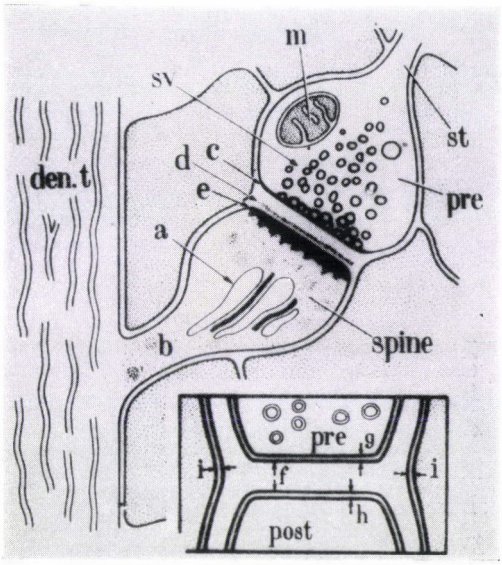
tikus synapsis, hol a megvastagodás nem ilyen kifejezett, egyben a synaptikus rés csak 200 Å.

Postsynaptikus plasma: idegsejteknél erre a mitochondriumban való viszonylagos gazdagság jellemző. Ugyancsak gyakran előforduló organellumok az aposynaptikus vesiculumok vagy tubulusok (12. ábra), melyek a synapsis működésének megindulásával párhuzamosan jelennek meg először. Speciális képződmények a GRAY által az emlősök cortexében leírt ún. tüske apparatusok (13. ábra), melyek a pyramis sejtek dendritikus tüskéiben figyelhetők meg. Minthogy ezeket kizárólag neocortexben találták, HAMLYN [22] felveti esetleges szerepüket a memória, illetve tanulásban — ez azonban egyelőre puszta feltételezés. Egyébként is hasonló csak némileg különböző, ún. „formation sousynaptique"-t talált TAXI [23] is béka vegetatív ganglionjában az unipoláris idegsejt synaptikus felszíne alatt. Osmiophil, subsynaptikus korongokat mi is megfigyeltünk a kisagy-szigetekben a szem-



12. ábra. Synapsis fiatal csirke gg. ciliarejából. Az extracelluláris tér (*ec*) folytonos a synaptikus réssel (nyíl). *as* = aposynaptikus vesiculák

csesejtek dendritjeiben. Kisagy Purkinje-sejtek dendritikus tüskéiben ugyanakkor csak a tüske apparatus üres zsákszerű képződményeit találtuk meg [24], közbeékelt osmiophil rétegek nélkül. Természetesen a speciális postsynaptikus organellumoknak az ingerület átvitelben játszott szerepére vonatkozóan még direkt kísérletes bizonyítékok szükségesek. Elektrofiziológiai szemszögből ugyanis nem látszik indokoltnak a postsynaptikus sejtmembránon történő ingerületvezetésen kívül még más „indirekt"-nek tűnő struk-



13. ábra. „Spine" (tüske) apparátus (*a*) cortex pyramissejt dendritikus tüskéjében; *pre* = presynaptikus végződés; *den. t.* = dendritikus tubulusok. A kinagyításban a pre- és postsynaptikus membránok unit-membrán szerkezete látható (Gray [21])

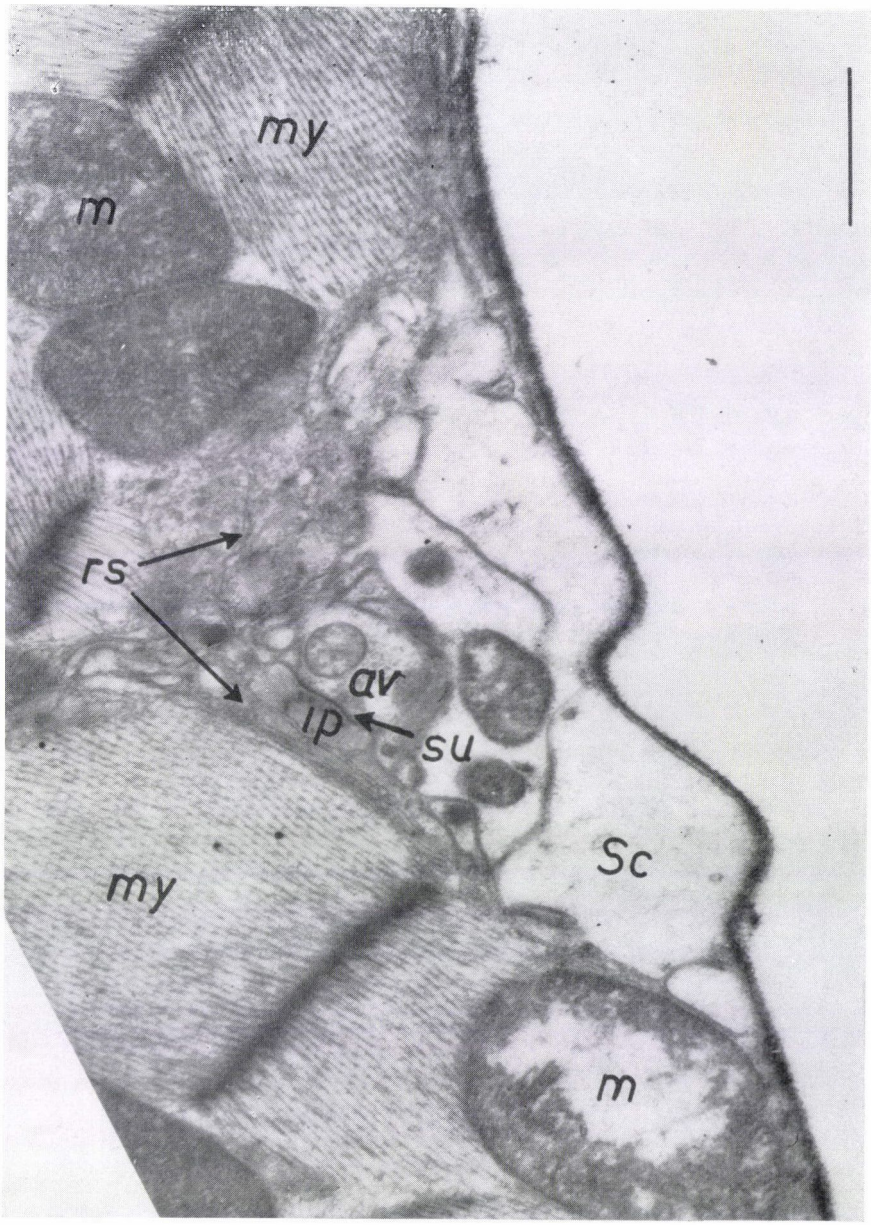
túrák „direkt" bekapcsolása a funkcióba; a membrán, ha nem is hosszabb ideig, önállóan is megtartja vezetőképességét. Ez természetesen nem jelentheti azt, hogy a mesterséges, kísérletes körülmények között tapasztaltak minden további nélkül érvényesek a fiziológiásra is. Erre szabadjon egy példát felhozni a postsynaptikus membránnal kapcsolatosan. Az idegvégződésekben működő kémiai mediátort ma általánosan elfogadott gyakorlat szerint úgy identifikálják, hogy az illető mediátort kívülről mikropipetta segítségével beviszik a synapsis közvetlen közelébe, amely így elérheti a postsynaptikus membrán fehérjéit; a membrán mediátorérzékenységétől függően depolarizálódik, hyperpolarizálódik vagy nem reagál. Ezt elvezető mikroelektróda segítségével állapítják meg. Ha például a bevitt acetylcholin a postsynaptikus membrán depolarizációját, illetve akciós potentiált indukál, akkor az illető synapsis „cholinerg". Annál inkább, minél kisebb koncentrációban hatott rá a kívülről bevitt acetylcholin. Az ilyen synapsisok-

ban histokémiailag kimutatott acetylcholinesterase jelenléte — mint pl. a moharost végződéseknél a kisagyban — is a végződés cholinergiás jellege mellett látszott szólni. CURTIS újabb vizsgálatai [16] azonban óvatosságra intenek. Macska kisagykéreg synapsisait vizsgálta. Acetylcholin beadásra mind a szemcsesejtek, mind a Purkinje-sejtek esetében depolarizációt kapott, amit atropin teljesen legátolt. Ugyanilyen depolarizációt kapott akkor is, ha acetylcholin helyett a befutó rostokat, tehát végződéseket elektromosan ingerelte. Utóbbi esetben azonban az atropin vagy a dihydro-β-eritroidin a postsynaptikus depolarizációt egyáltalán nem gátolta le. Ez arra utal, hogy a kisagy synapsisainál az ingerület áttevődésben nem az acetylcholin a kémiai mediátor. Vagyis egy synapsis valódi mediációs jellegét csak igen sokoldalú vizsgálatok alapján határozhatjuk meg. — Postsynaptikus, specializált struktúrákat nemcsak idegsejtben, hanem pl izomsejtekben is találhatunk. Így pl. rovarok szárny- és lábizom rostjaiban ún. „rete synapticum"-ot írtak le, mely a postsynaptikus membránt a környező myofibrillumok felületét borító sarcoplasmás reticulummal, és a szomszédos mitochondriumokkal köti össze [25]. A rete synapticum tulajdonképpen specializált endoplasmás reticulum, mely lemezekből, csövekből és vesiculumokból áll (14. ábra). E struktúra minden bizonnyal az intracelluláris, postsynaptikus ingerület vezetéséért felelős, vagyis a myoneurális junkcióról a myofibrillára vinné át az ingerületet. Erre mutat az is, hogy kizárólag a lokális depolarizációs (tehát nem propagált) tipusú izomrostoknál található meg.

Végül a fentiek birtokában megpróbálkozhatunk néhány, a bevezetésben felvetett kérdés megválaszolásával. Van-e strukturális különbség gátló és serkentő synapsisok között? Bár a gátló synapsisok elsősorban a Gray II. tipusba sorolhatók, mint általában minden axosomatikus végződés, vannak ugyancsak a II. tipushoz tartozó, de biztonsággal serkentő végződések is. Ugyancsak vannak presynaptikus gátló axo-axonikus végződések is, melyek egyaránt lehetnek specializált Gray I. (15. ábra) és nem specializált Gray II. (16. ábra) typusúak. Ismeretes, hogy a gátló synapsisok ugyanúgy cholinerg mechanizmus szerint működhetnek, mint a serkentők. A főbb különbséget inkább a gátló synapsisok topografiájában látjuk az esetlegesen meglevő strukturális különbségek mellett.

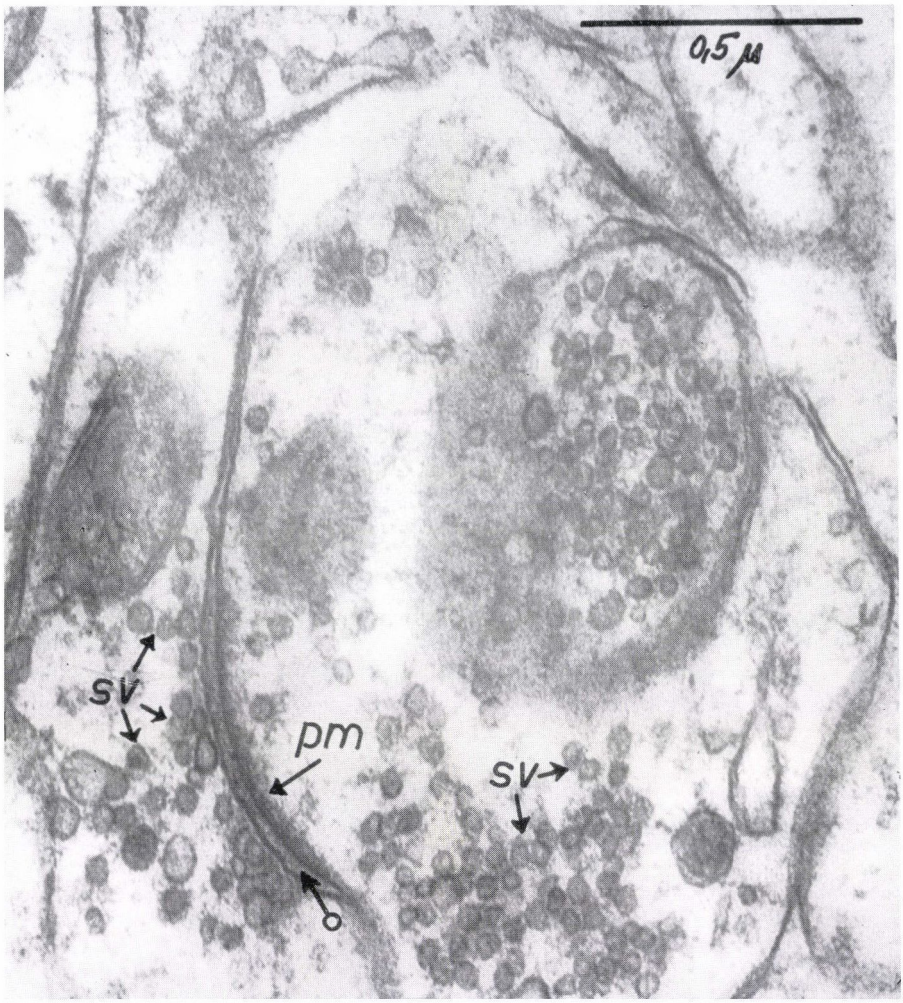
A gátló synapsisok vagy az axonvégződésen (axo-axonikus) találhatók, vagy a somán, illetve az axon eredése körül helyezkednek el. Stratégiai szempontból különösen ez utóbbi biztosít igen effektív ingerületgátlást (l. pl. a Purkinje-sejt kosarakat).

Feltűnő, hogy az axo-somatikus synapsisok esetében igen sokszor tág extracelluláris terek veszik körül a synaptizáló részeket. Különösen jól látszik ez a Purkinje-sejtet és axont körülvevő kosársejt axonvégződések esetében; a compact struktúra mellett lazább, extracelluláris térbe ágyazott finom axonvégződésekből álló szerkezet is körülveszi az eredő Purkinje-axont



14. ábra. Neuromuscularis synapsis rovar szárnyizomban. Specializált sarcoplasmás reticulum, (rete synapticum) *rs* köti össze a postsynaptikus izompillért (*ip*) a szomszédos myofibrillákkal (*my*). *Sc* = Schwann-sejt

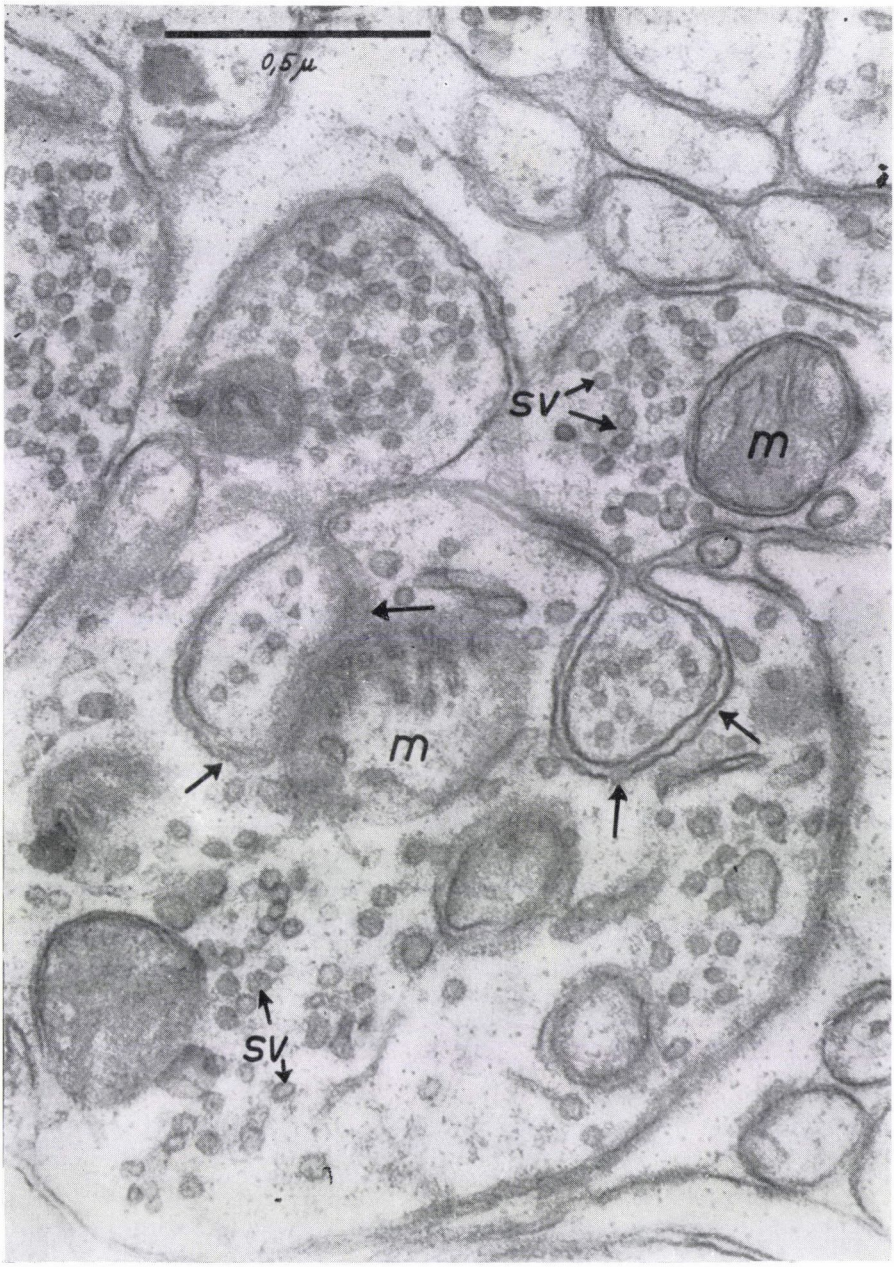
(17. ábra). — Ezzel szemben a dendriteket extracelluláris tér sohasem veszi körül. A dendriteket ott (a Purkinje dendritek esetében látszik ez különösen jól), ahol axonnal vagy másik dendrittel nem érintkeznek, mindig glianyúlvány



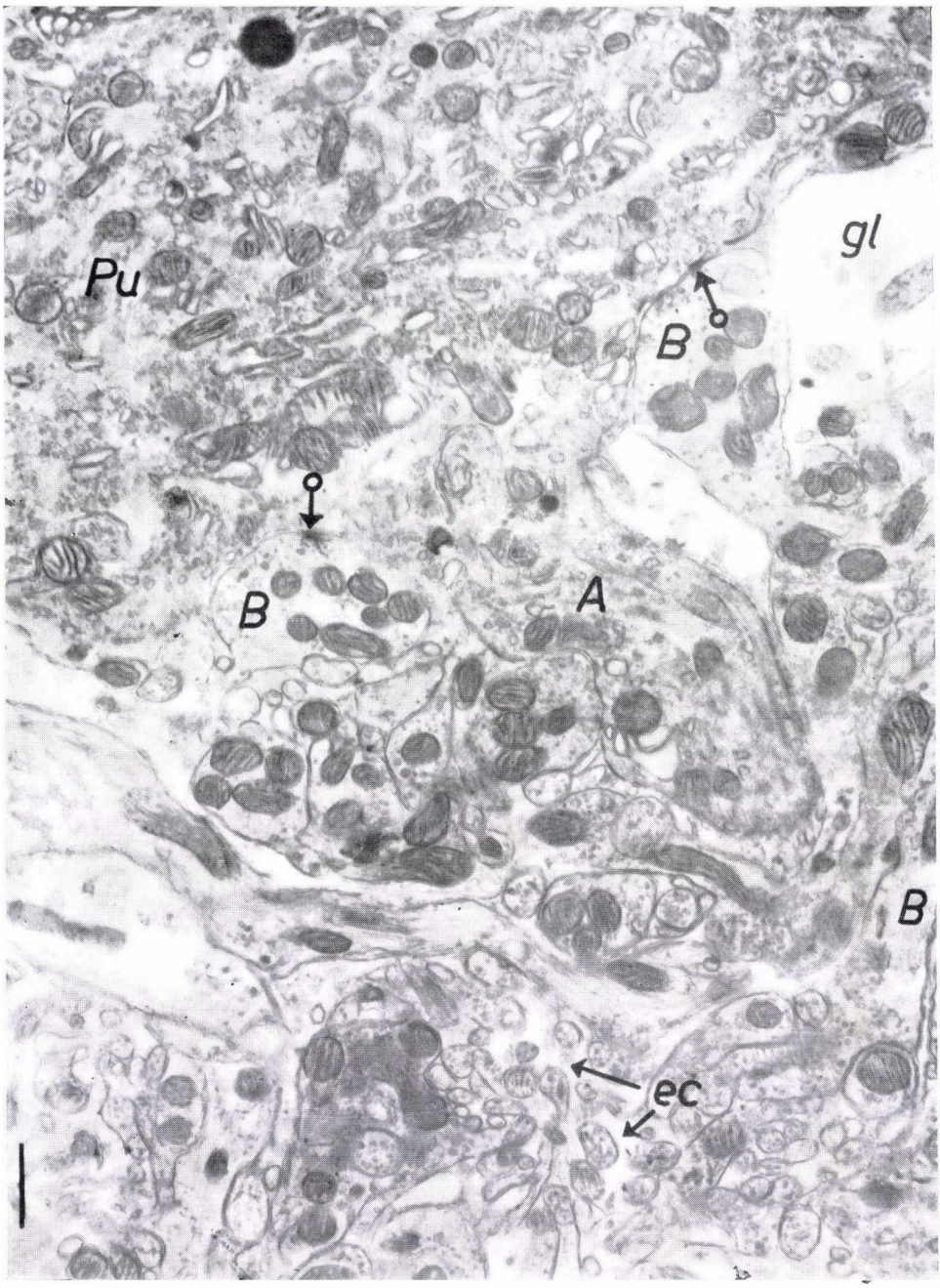
15. ábra. Gray I. típusú axo-axonikus synapsis. A synaptikus rés (nyíl) 300 Å. A postsynaptikus membrán (*pm*) erősen megvastagodott

borítja (18. ábra). E különbség a sejt különböző részei között szerepet játszhat az idegsejt különböző kvalitású lokuszainak kialakításában.

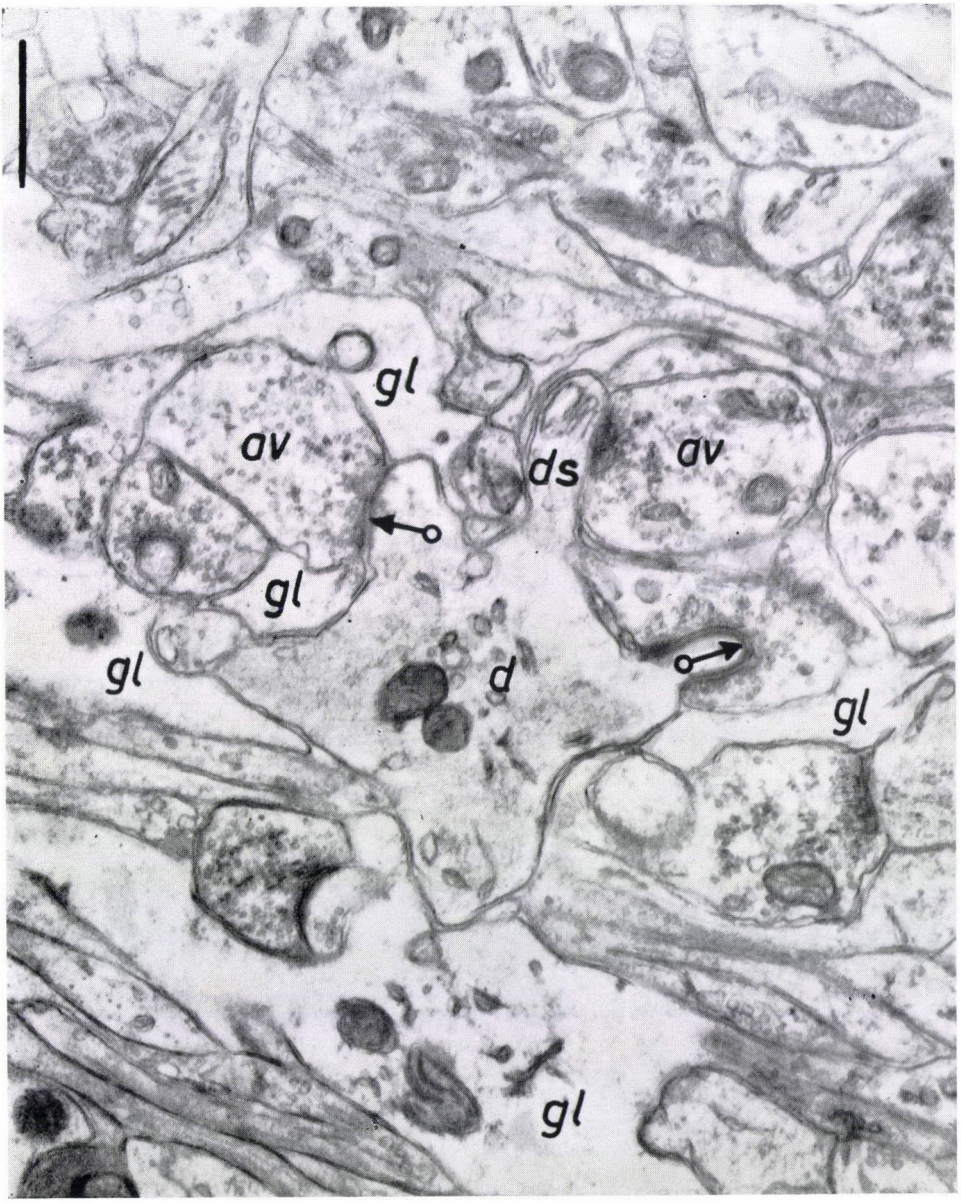
A kémiai és elektromos synapsisok szerkezete között lényeges különbség van. Utóbbira általában a synaptikus rés redukciója vagy teljes felszívódása (részleges membránfúzió) jellemző. Azonban elvétve ettől eltérő szerkezetű,



16. ábra. Gray II. típusú axo-axonikus synapsis. Nyilak jelzik a valószínű synaptikus érintkezési felszínt



17. ábra. Purkinje-sejt (*Pu*) eredő axonnal (A). A sejt bázisán kosáraxonok (B) Gray II. típusú synapsist létesítenek (nyilak), üres glia nyúlványoktól körülvéve. A kép alsó részén a kosáraxonok oszlásából keletkező finom rostok tömege látszik, közöttük kisebb-nagyobb extracelluláris tágulat (*ec*)



18. ábra. Kisagykéreg, molekuláris réteg. Az axonok és dendritek között extracelluláris tér nincs, a glia -nyúlványok (*gl*) minden teret kitöltenek. ds—dendrit tüske

teljesen a kémiaira hasonlító elektromos synapsisok is vannak (ganglion ciliare), ami valószínűleg a synapsis igen speciális topografiai szituációjának a következménye.

Előadásunk végére érve remélni szeretnénk, hogy e vázlatos ismertetés betekintést nyújtott az idegsejt, idegvégződés szerkezetébe. Természetesen a struktúra ismeretében felállított hypothesisek végső beigazolásához csupán morfológiai eszközök nem elégségesek. Direkt bizonyítékokat csak a fiziológiai és morfológiai módszerek megfelelően összehangolt alkalmazásától remélhetünk.

IRODALOM

1. Bullock, T. H.: Science, **129,** 997 (1959).
2. Eccles, J. C.: Thy physiology of synapses. Springer, Berlin (1964).
3. Szentágothai, J., Flerkó, B., Mess, B., Halász, B.: Hypothalamic control of the anterior pituitary, Akad. Kiadó, Bp. (1962).
4. Halász, B., Szentágothai, J.: Z. Zellforsch., **50,** 297 (1959).
5. Hydèn, H.: IV. Biokémiai Világkongresszus, Bécs (1958).
6. Rőhlich, P., Aros, B., Vigh, B.: Z. Zellforsch. **58,** 424 (1962).
7. Green, D. Z.: V. Biokémiai Világkongresszus, Moszkva (1961).
8. Szentágothai, J.: Acta Anat., **30,** 827 (1957).
9. Müller, P.: Exp. Cell Res. Suppl. **5,** 118 (1958).
10. Robertson, J. D. C.: Z. Zellforsch., **50,** 553 (1959).
11. de Robertis, E., Pellegrino, A., Rodriguez, G., Salganicoff, L.: J. Neurochem., **9,** 23 (1962).
12. Hámori, J., Diashkova, L.: Acta biol. Acad. Sci. hung. **15,** 213 (1964)
13. Robertson, J. D., Bodenheimer, T. S., Stage, D. E.: J. Cell Biol. **19,** 159 (1963).
14. de Robertis, E.: Exp. Cell Res. Suppl. **5,** 347 (1958).
15. Hámori, J.: Acta biol. Acad. Sci. hung. **14,** 231 (1963).
16. Curtis, D. R.: Személyes közlés (1964).
17. Axelrod, R. S., Richardson, K. C.: Acta Neuroveg. Congress, Marseille (1962).
18. Koelle, G. B.: J. Pharm Pharmacol., **14,** 65 (1962).
19. Robertson, J. D.: J. Cell Biol. **19,** 191 (1963).
20. Lehrer, G. M., Ornstein, L. A.: J. biophys. biochem Cytol., **6,** 399 (1959).
21. Gray, E. G.: J. Anat., **97,** 101 (1961).
22. Hamlyn, C. H.: J. Anat., **96,** 112 (1962).
23. Taxi, J.: IV. Internat. Neuropath. Congress, Thieme, Stuttgart (1962).
24. Hámori, J., Szentágothai, J.: Acta biol. Acad. Sci. hung. **15,** 210 (1964).
25. Edwards, G. A., Rincke, H., de Harven, E.: J. biophys. biochem. Cytol., **4,** 251 (1958).

IZOM- ÉS IDEGSEJTEK ELEKTROFIZIOLÓGIAI VIZSGÁLÓMÓDSZEREI

SALÁNKI JÁNOS és LÁBOS ELEMÉR

MTA Biológiai Kutatóintézete, Tihany

Napjaink citológiai kutatásainak egyik legérdekesebb és legizgalmasabb területe az izom- és idegsejtekben működésük során lejátszódó történések vizsgálata, azok alapvető mechanizmusainak, elemi jelenségeik ok-okozati összefüggéseinek kutatása. Kétségtelen, hogy éppen ez a biológia azon területeinek egyike, melyben az elmúlt 20—25 év során rendkívül sok irányú és eredményes kutatás folyt. Az elmúlt negyedszázad gyorsan fejlődő technikai lehetőségeit felhasználva szinte 4—5 évenként újabb és teljesebbnek ígérkező elméletek születtek az ideg- és izomrendszer alapvető egységei elemi működésének magyarázatára. Ezen kutatások során rendkívül fontosak voltak a különböző morfológiai, analitikai kémiai és biokémiai módszerek, beleértve az izotop technikát is. Ezek a módszerek a vizsgált sejtek struktúrájára, kémiai összetételére, a sejtek és az azokat körülvevő extracelluláris tér ion arányaira, a sejtek organikus, különösen energiahordozó és alapvető strukturális anyagaira vonatkoztak. Mégis, a működés megértése szempontjából talán legtöbbet adónak az elektrofiziológiai vizsgálómódszerek bizonyultak.

Ennek oka két tényezőben keresendő. Egyik az, hogy a megfigyelhető elektromos jelenségek, potenciálkülönbségek és változások az idegsejtek működésének specifikus, lényegi tartalmával, funkciójával, a legszorosabb kapcsolatban vannak. Az izomsejtek esetében pedig az idegingerület formájában jelentkező elektromos effektusok a működés kiváltásának vagy felfüggesztésének szinte kizárólagos direkt vagy indirekt hatóokai. Másik az, hogy mind az ideg-, mind az izomsejtek elektromosan közvetlenül ingerelhetők, és lényegileg egész hosszúságukban képesek elektromos változások tovavezetésére.

Tulajdonképpen igen régóta ismeretes az, hogy számos biológiai rendszer képes elektromos energiát generálni. GALVANI, a bolognai egyetem anatómus professzora, már 1786-ban megfigyelte, hogy egy rézkampóra akasztott, s egyidejűleg vasráccsal is érintkező békacomb rángást végez, miközben elektromos áram jön létre. Megfigyelése igen éles vitát váltott ki, mert a jelenséget VOLTA nem akciós áram jelenlétével, hane m azzal magyarázta, hogy a sóoldatok (mint amilyen a szövetnedv) és fémek érintkezésénél feszültségkülönbségek és áramok lépnek fel. NOBILI azonban (1827) az izomáramot

galvanométerrel is kimutatta. Újabb másfél évtized múltán, 1843-ban pedig MATEUCCI úgy demonstrálta az izomban jelenlevő feszültségkülönbséget, hogy egy izom idegét egy másik izom ép és sértett területén átfektette. Ez esetben az első izom összehúzódott épp úgy, mintha elektromos inger érte volna.

Ami a bioelektromos jelenségeket illeti, azt lehet mondani, hogy a rendszer különböző részei közötti potenciálkülönbség az élő szervezetek általános tulajdonsága. Ez biztosan érvényes molekuláris szinten és valószínűleg igaz szubcelluláris szinten, a sejtmag, mitochondrium és más alkotórészek vonatkozásában is. Az elektrofiziológiai vizsgálatok azonban ma még legkiterjedtebben a celluláris szinten folynak, és azok általános iránya négy fő kérdés köré csoportosítható:

1. A sejtek elektromos állapotának, polaritásának tanulmányozása;
2. feszültség és áramváltozások vizsgálata a működés során;
3. az elektromos áram hatása az élő anyagra;
4. a sejtek elektromos jellemzőinek tanulmányozása (BURES, PETRAN és ZACHAR, 1960).

Ezek a kérdések az általános elektrofiziológia tárgykörébe tartoznak és tulajdonképpen a bioelektrogenezis alapjainak kutatását jelentik. Az idegélettanra kivetítve ez a helyi és tovaterjedő ingerület létrejöttével és elektromos mechanizmusaival, közelebbről az ingerület keletkezésével, tovaterjedésével és áttevődésével kapcsolatos elemi jelenségeket érinti. Adott esetben ez nemcsak egyes sejtekre, de egész szövetekre és szervekre is vonatkozhat, bár az elemi jelenségek vizsgálatánál mindig az elemi funkcionális egységek jellemzői és sajátosságai állnak a vizsgálat középpontjában. Így az ideg- és izomrendszer szempontjából maguk az egyes receptorkészülékek, az idegsejtek, az izolált rost, az interneuronális szinapszis, a neuroeffektor áttevődés helye, illetve az izolált vagy izoláltan vizsgált izomrost.

A biológiában is gyakori, hogy a vizsgált elemi struktúrák kicsiny mérete, továbbá a lezajló, vizsgálni kívánt folyamatok sebessége, valamint a kvantitatív változások finomsága miatt a kutatások szintje és eredményessége rendkívüli mértékben a technikai lehetőségek függvénye. Ez igen szemléletes módon érvényes az elektrofiziológiára is. Jóllehet DU BOIS REYMOND a szánkainduktornak, mint ingerlőnek, a galvanométernek pedig, mint mérőműszernek az alkalmazásával már 1851-ben lerakta az elektrofiziológia alapjait, melynek segítségével a bioelektromos jelenségek két típusát, a nyugalmi és az akciós potenciált demonstrálta, mégis, a technikai berendezések lassú fejlődése miatt a jelenségek sejtszinten történő vizsgálatára ténylegesen csak közel 80 évvel később kerülhetett sor. Az ingerlő készüléknek kezdettől használt indukciós tekercs mellett egyes impulzusok adására kondenzátorokat alkalmaztak, melyekkel a kapacitás megfelelő megválasztásával nemcsak az ingerfeszültséget, de annak időtartamát is lehetett szabályozni. A kondenzátorkisülés leszálló szárának nem elég meredek volta miatt azonban az ingerlésnek ez

a módja nem tekinthető ideálisnak. Csak a rádiócső technika utóbbi 30 évben bekövetkezett fejlődése tette lehetővé négyszöggenerátorok építését, melyekkel az ingerimpulzus feltételei, az egyes inger feszültsége, annak időtartama (impulzus szélesség), valamint a sorozatinger frekvenciája jól szabályozható. A négyszögingerlővel olyan impulzus állítható elő, melynek létrejötte és megszűnése elhanyagolhatóan rövid idő alatt következik be, és az ingerlő elektródák közötti potenciálkülönbség az impulzus időtartama alatt szigorúan állandó.

A regisztrálóműszerek fejlődésének jelentős állomását jelentette a tükrös galvanométer még a múlt század második felében. Annak azonban túl nagy a tehetetlensége, ezért ahhoz, hogy a keletkező bioelektromos áram olyan nagyságot érjen el, ami a tükör elfordulását előidézi és ezáltal a potenciálváltozást észlelhetővé teszi, 10—15 egymásutáni inger adása szükséges. Közvetlenül a századforduló előtt kapillár elektrométerrel próbálkoztak, mely már egyes inger hatására keletkezett potenciálváltozást is képes volt regisztrálni, de az első mennyiségi mérésekre is alkalmas műszer csak a XX. század első éveiben megjelent húros galvanométer volt. A készülék elve az, hogy elektromágnes két pólusa között, tehát mágneses térben, vezető helyezkedik el, ami a rajta áthaladó áram irányától és nagyságától függően kitér. A készüléket egyébként — amint az történni szokott — nem fiziológiai kutatások céljaira hozták létre, hanem az Európa és Amerika között akkoriban lefektetett első vízalatti telefonkábel épségének ellenőrzésére.

A mérő és regisztráló műszerek további korszerűsödése is annak volt köszönhető, hogy a rádiótechnika ugrásszerű fejlődésen ment át. Ennek folytán alkalmazásra került az idegi folyamatok vizsgálatában az elektroncsöves erősítés, valamint az oszcilloszkóp, miáltal nagyfokú erősítés és tehetetlenségmentes regisztrálás vált lehetővé. Erre az időszakra esik az idegélettan jelentős forradalmasodása, mikor is a kutató számára az idegizgalom jele már nem az izomműködés, hanem az akciós potenciál.

Közvetlenül a második világháború előtt új korszak kezdődött az elektrofiziológiában. Hodgkin és Huxley (1939) majd Curtis és Cole (1940) kalmár óriás axonokba longitudinálisan mikroelektródát vezettek be és intracellulárisan regisztrálták a nyugalmi potenciált.

Tíz évvel később újabb jelentős fejlődés következett be. A Hodgkin—Huxley-féle mikroelektródák mellett megjelent az üvegkapilláris mikroelektróda, melynek átmérője 1 μ körül volt (Ling és Gerard 1949). Már az első vizsgálatok olyan eredményekre vezettek, ami megdöntötte az addigi elképzelést a membránpotenciálról és az ionpermeabilitásról. Hodgkin és Katz (1949), ill. Hodgkin, Huxley és Katz (1952) új hipotéziseket fogalmaztak meg, melyekről még bővebben lesz szó.

Jelenleg az elektrofiziológia elsősorban az idegrendszert és az izomműködést tanulmányozza. A leghangsúlyozottabb kutatási területek sejtszinten az alábbiak:

1. Az inger—válasz viszonya a receptorokban, neuronokban és izomrostokban, beleértve az ingerületáttevődést is;

2. Afferens szignalizáció, valamint központi idegrendszeri kapcsolatok vizsgálata;

3. Spontán és kiváltott potenciálok és az anyagcsere kapcsolata.

A vizsgáló módszerek fejlődése tehát az általános technikai előrehaladás eredményeképpen ma már olyan fokot ért el, hogy a sejtekben lezajló folyamatok gyorsaságát és dinamizmusát követni tudja. A mérőműszerek pontossága pedig mennyiségi megfogalmazást és a jelenségek exakt matematikai megformulázását is lehetővé teszi.

Az elektrofiziológiai módszerek sejtszinten történő alkalmazásának elvi alapjai szoros kapcsolatban vannak bizonyos elektrokémiai meggondolásokkal. A módszer gyakorlati felhasználása pedig az elektronika igen fejlett alkalmazását követeli meg. Következésképpen az elektrofiziológia e két tudományterülettel sokrétű módszertani és tartalmi kapcsolatban van. Éppen ezért az elektrofiziológiai vizsgáló módszerek ismertetését rövid elektrokémiai bevezetéssel kezdjük, majd a bioelektromos jelenségek magyarázására ma leginkább elfogadott membránelméletet és annak alapján a legfontosabb alapjelenségeket, a nyugalmi áramot és az akciós potenciált tárgyaljuk. A második részben a sejtszinten alkalmazható mikroelektróda technika, valamint ennek kapcsán az elektronika egy-két számunkra alapvetően fontos elve és problémája kerül ismertetésre.

I.

1. Elektrokémiai alapfogalmak

Az elektrofiziológiai módszerek alkalmazása során négyféle, különböző eredetű elektromos feszültséggel, potenciállal kell számolnunk, melyek vagy a vizsgálat során alkalmazott technikai eljárások (ingerlő és elvezető elektródák alkalmazása) velejárói, vagy a biológiai rendszer sajátjai. A cél az, hogy a nem biológiai eredetű potenciálokat minimálisra redukáljuk és a vizsgálat csak a sejtek élettani állapotával, valamint működésével kapcsolatos elektromos jelenségeket tükrözze. A szóba jöhető potenciálok a következők: elektródpotenciál, koncentrációs potenciál, diffúziós potenciál és membránpotenciál.

a) *Elektródpotenciál.* Ismeretes, hogy ha egy fémet saját vagy más fém sójának oldatába merítünk, akkor a fémionok oldatbalépési tendenciát mutatnak, s a visszamaradó elektronok miatt a fém negatív töltésű lesz. Az oldatból viszont az ionok ozmozisos nyomásától függően a pozitív fémionok kiválni igyekeznek. Így a fém—oldat határon elektromos kettősréteg alakul ki. Ez a kettősréteg az oldat és az elektróda között az úgynevezett elektródpotenciál fellépését eredményezi. Ez direkte nem mérhető. Nagysága

függ az oldat és a fém minőségétől, az oldat koncentrációjától és az abszolút hőmérséklettől (Nernst-egyenlet):

$$V = Vo + \frac{RT}{nF} \cdot \ln a$$

ahol Vo — adott elektródára nézve konstans, adott hőmérsékleten, egységnyi aktivitású oldattal szemben mért potenciálkülönbség.

R = gázállandó, $T = t + 273$ C°,
n = a kation elemi töltéseinek száma (= vegyérték),
F = Faraday-állandó (96 500 C),
a = kation aktivitás (= aktivitási koefficiens × mól koncentráció = $= f \cdot c$).

Az f ionaktivitási koefficiens tulajdonképpen a szabad ionok mértéke, mely a százalékos ion kötődéssel fordítva arányos, így híg oldatok esetében = 1. Ilyenkor tehát a kation aktivitás = a mólkoncentráció. Ha n = 1, akkor 20 C°-on számítva $V = Vo + 0{,}058 \cdot \log \cdot c$.

Tulajdonképpen ezzel találjuk szemben magunkat, valahányszor fémelektródát viszünk be valamilyen különböző sóoldatot (szövetnedvet) tartalmazó biológiai objektumba. Tekintve, hogy az elektróda és a sóoldatok között létrejövő potenciál a szövet tényleges elektromos mutatóinak mérését zavarja és más zavaró effektusokkal is jár, az elektrofiziológiai munkára ilyen, úgynevezett polározó elektródák nem alkalmasak. Különösen érvényes ez lassú potenciálok mérése esetén, mert olyankor a sóoldat koncentrációja és az elektródák töltése állandóan változik. Ennek kiküszöbölése céljából nem polarizálódó elektródákat kell alkalmazni. Erre elvileg és gyakorlatilag is két út van: *a)* a fémelektróda saját sójának oldatába merül és a preparátummal fiziológiás elektrolit oldaton keresztül van kapcsolatban, vagy pedig *b)* a fémet rosszul oldódó sójának rétegével kell bevonni és ez olyan oldatba merül, amelyik ugyanezen só anionját tartalmazza. Előbbire példa, amikor réz—rézszulfát ($Cu—CuSO_4$) vagy cink—cinkszulfát ($Zn—ZnSO_4$) összeállítású elektródát készítünk, utóbbira pedig, mikor az ezüst elektródát ezüstklorid réteggel vonják be és azt konyhasó oldatba merítik ($AgAgCl—NaCl$), vagy a $HgHgCl_2—NaCl$ (kalomel) elektróda.

b) *Koncentrációs potenciál.* Ha két azonos fémelektróda saját sójának két különböző koncentrációjú oldatába merül, akkor az elektródok között potenciálkülönbség lép fel, mely a sóoldatok koncentrációjától és a hőmérséklettől függ. A Nernst-egyenlet ilyenkor így alakul:

$$E_k = V_1 - V_2 = V_0 + 0{,}058 \cdot \log a_1 - V_0 + 0{,}058 \cdot \log a_2 =$$

$$= 0{,}058 \cdot \log \frac{a_1}{a_2} = 0{,}058 \cdot \log \frac{f_1 c_1}{f_2 c_2}$$

Ez tulajdonképpen a koncentrációs elem egyenlete, mikor is az oldat és az elektróda között kationcsere történik ($Cu—CuSO_4$). Ilyenkor a hígabb oldatba merített elektróda a negatív. Ha pedig az oldat és az elektródák között anioncsere van (AgAgCl—NaCl), akkor a hígabb oldatba merített elektróda pozitivitást mutat a másikhoz képest.

A potenciálkülönbség itt tehát az ionok egyenlőtlen koncentrációeloszlásán alapul. A Nernst-egyenlet a passzív ioneloszlású rendszerekre érvényes, mikor is az ionvándorlást semmi aktív folyamat nem gyorsítja vagy nehezíti.

A Nernst-egyenletnek a sejtek belseje és külseje közötti egyenlőtlen ioneloszlásra való alkalmazása a nyugalmi potenciálnak egyik jelentős momentuma volt, s részben ma is az.

c) *Diffúziós potenciál.* Ha ugyanazon elektrolit két különböző koncentrációját egymástól porózus hártyával vagy agar híddal választjuk el, akkor a koncentrációkülönbség kiegyenlítődése megindul. Ha azonban az oldatban levő kationok és anionok mozgékonysága egymástól különbözik, akkor a mobilisabb ion gyorsabban fog a híg oldatba átdiffundálni, miáltal az ionok bizonyos fokú elkülönülése következik be, ami a határhártyán potenciálkülönbség megjelenésében nyilvánul meg. Ez a diffúziós potenciál. Annak nagysága:

$$E_d = 0{,}058 \cdot \frac{u - v}{u + v} \log \frac{c_1}{c_2}$$

ahol u a kation, v az anion mobilitása. Ha $u > v$, akkor a híg oldat pozitív, mivel a tömény oldatból (C_1) a pozitív töltések hamarabb jutnak el a hígabb oldatba (C_2), mint a negatív ionok. Tekintve, hogy egy ilyen rendszer egyidejűleg koncentrációs elemként is szerepel, a ténylegesen fellépő potenciál nagysága a koncentrációs és diffúziós potenciálok összegeződéséből adódik. Attól függően, hogy az elektróda a rendszer anionjaival vagy kationjaival van egyensúlyban, a diffúziós potenciál hozzáadódik vagy levonódik a koncentrációs potenciálból. Ez érthető, ha figyelembe vesszük, hogy polározó fémelektródák esetén a kisebb koncentrációjú helyen levő elektróda a negatív, viszont $u > v$ esetben a kisebb koncentrációjú helyre a nagyobb koncentrációjú oldalról a pozitív kationok lépnek át gyorsabban, ami az elektromos potenciálkülönbség kiegyenlítődése irányában hat. Ugyanilyen esetben olyan elektródát alkalmazva, mely a rendszer anionjaival van egyensúlyban, a koncentrációs és diffúziós potenciál összegződik.

Diffúziós potenciál két azonos koncentrációjú, de eltérő ionösszetételű oldat határán is fellép, minthogy a különböző ionok mozgékonyságában különbség van. Így pl. 0,1 n NaCl és 0,1 n KCl között 18 C°-on 5 mV diffúziós potenciál lép fel, mikor is a K^+ ionok nagyobb mozgékonysága miatt a NaCl oldal a pozitív.

Biológiai rendszerekben általában diffúziós potenciállal számolni kell, mely a sejtek külső és belső folyadékterét elválasztó biológiai határhártyára lokalizálódik.

Az elektrofiziológiai vizsgálómódszerek során az elektrolittal töltött üveg mikroelektródák alkalmazásakor is jelentősége van a diffúziós potenciálnak. Tekintve, hogy az zavarólag hat a bioelektromos jelenségek mérésére, lehetőleg ki kell küszöbölni. Minthogy a diffúziós potenciál egyenesen arányos az ellentétes ionok közötti mobilitás eltéréssel, és minthogy a sejtek belsejében (intracellulárisan) a kálium ion koncentrációja dominál, az intracelluláris elektródákat is KCl-el töltik, hogy ez által a diffúziós potenciált lehetőleg minimumra csökkentsék.

d) *Membránpotenciál.* Ha két különböző koncentrációjú, vagy összetételű oldatot kollodium vagy fehérje hártya segítségével választunk el egymástól, akkor lép fel a membránpotenciál. A pórusmérettől függően a membrán permeabilitása más az anionok és más a kationok számára. Továbbá, a hártyát képező fehérje molekulák bizonyos pH-n negatív töltésűek, ezért az anionokat nem engedik át, viszont a kationok számára jól átjárhatók. Ilyen membrán két oldalán tehát a diffuzibilis ion különböző koncentrációi között fellépő potenciálkülönbség áll fenn, minthogy a másik ion mobilitása egyenlő nullával.

$$E_d = 0{,}058 \cdot \frac{u - v}{u + v} \cdot \log \frac{c_1}{c_2}, \text{ minthogy } v = o$$

$$E_m = +0{,}058 \log \frac{c_1}{c_2}$$

Ha a membrán anion-permeabilis és a kationokra nézve impermeabilis ($u = 0$), akkor ugyanaz a helyzet, csak az előjel fordított. Az előjel mindkét esetben a hígabb oldatra vonatkozik. Az ideális membránpotenciál ez esetben tehát egyenlő a koncentrációs potenciállal. Praktikusan azonban a diffúziós potenciál sincs teljesen kiküszöbölve.

A membránpotenciál a biopotenciáloknak is jelentős forrása. A feltételek azonban itt sokkal bonyolultabbak, minthogy a biológiai membránokat egyrészt különböző összetételű oldatok veszik körül, másrészt a membrán anion és kation permeabilitása igen eltérő és változó, harmadrészt pedig itt már nemcsak fizikai és fizikokémiai okok, hanem az anyagcsere aktivitása is rendkívüli módon közbeszól, ami az elektrokémiai gradienssel szembeni diffúzióban nyilvánul meg. Ennek jelentőségét a nyugalmi és akciós potenciál membránelméletének tárgyalása során tekinthetjük át legkönnyebben.

2. A nyugalmi potenciál membránelmélete

Régóta ismeretes, hogy a nyugalomban levő izom- és idegsejt felszínének két pontja között nincs potenciálkülönbség. Ha azonban az izmot vagy ideget megsértjük és az egyik elektródát a károsított-területre helyezzük, akkor az ép és sértett hely között potenciálkülönbség észlelhető. Feltételezték, hogy a sértett helyre tett elektróda a sejtek belsejével érintkezik, a potenciálkülönbség tehát a sejt felszíne és belseje között áll fenn. Ezt a potenciálkülönbséget nyugalmi vagy sértési (demarkációs) potenciálnak nevezték el. A potenciálkülönbség olyan, hogy a sértett hely, vagyis a sejt belseje, elektronegative viselkedik a sejt külső felszínével szemben. Ennek mérésére a század elején tettek először kísérletet. Annak mért nagyságát azonban rendkívüli mértékben befolyásolta az, hogy a károsított és ép részek közötti potenciálkülönbség shuntölődött és a mérés számára elveszett. Mindenesetre ezek a megfigyelések szolgáltatták BERNSTEIN számára az első adatokat a membránelmélet megalapozásához. Eszerint a sejtek belső tartalmát egy hipotetikus membrán választja el a külső környezettől, mely membrán két oldalán levő ion-asszimmetria képezi a potenciálkülönbség alapját, az előbbiekben vázolt elektrokémiai elgondolásoknak megfelelően.

A legjelentősebb három ion, a K^+, Na^+ és Cl^- extra és intracelluláris eloszlása olyan, hogy a sejten belül a kálium, a sejten kívül pedig a nátrium és klór ionok dominálnak (1. táblázat).

1. táblázat

A kálium, nátrium és klór belső (i) és külső (o) koncentrációja (mM/kg H_2O) kalmár idegrost és béka sartorius izom esetében (HODGKIN, *1951*)

	Loligo axon	Béka m. sartorius
K_i	410	125
K_o	22	2,6
Na_i	49	15
Na_o	440	110
Cl_i	40	1,2
Cl_o	560	77

BERNSTEIN eredeti elképzelése szerint a membrán permeabilis a káliumra, de nem permeabilis a nátrium és klór ionokra nézve. Az elektromos potenciált az intracellulárisan felhalmozott K^+ ionok azon tendenciája okozná, hogy a sejtből kilépjenek. A membránpotenciál tehát a membrán két oldalán levő, a külső és belső kálium koncentráció különbségén alapul és a membrán semipermeabilitása tartja fenn. A potenciálkülönbség a Nernst-egyenlettel fejezhető ki:

$$V = 0{,}058 \cdot \log \frac{K_i}{K_0}$$

(ahol K_i = belső K^+ koncentráció, K_0 = külső K^+ koncentráció), ami általában 60—90 mV-nak felel meg.

A membránpotenciál ezen koncepciójának lényeges eleme az, hogy a membrán nyugalomban nem permeabilis Na^+-ionokra, aminek lényeges szerepe lenne a magas intracelluláris K^+ koncentráció fenntartásában. A Donnan-egyensúly alapján, minthogy a nem diffuzibilis fehérjék töltéssel rendelkező anionok formájában a sejten belül helyezkednek el, a Na^+ ionok koncentrációja pedig a membrán sajátos permeabilitása miatt az extracelluláris térben nagyobb, az általános elektroneutralitás miatt a kálium intracellulárisan, a klór pedig extracellulárisan kell koncentráltabb legyen.

Boyle és Conway (1941) a Donnan-egyensúly helyességét vizsgálták olyan viszonyok között, amikor megemelték a béka sartorius fürdőfolyadékának K^+ tartalmát és az egyensúlyi helyzet beállta után meghatározták az ilyen izmok iontartalmát. Azt találták, hogy a Donnan-egyenlet $(K_i^+) \cdot (Cl_i^-) = (K_0^+) \cdot (Cl_0^-)$ 12—300 miliekvivalens külső K^+ koncentrációértékek között jól megtartott volt.

A membrán Na^+-ra való impermeabilitása később nem bizonyult igaznak, mert Na^{24}-el végzett vizsgálatok azt mutatták, hogy a Na^+ mind az izom, mind az idegsejt membránján képes átjutni az extracelluláris térből a sejtbe. Ezért az elmélet bizonyos módosításra szorult.

Dean (1941) hangsúlyozta elsőnek azt, hogy mégha a Na^+ át is jut a membránon, ez nem érinti a Donnan-egyensúly érvényességét akkor, ha egy aktív pumpát is feltételezünk, mely a nátriumot olyan gyorsan el is távolítja a sejtből, mint amilyen gyorsan az oda belépett. Ez ugyanazt eredményezi, mintha a membrán ténylegesen impermeabilis lenne a nátrium ionokra nézve. Ezt a feltételezett nátriumkidobó mechanizmust nevezik nátriumpumpának.

A membránteóriának a nátrium-impermeabilitás, illetve nátriumpumpa feltételezése mellett, még a kálium ionok mozgékonysága, vagyis sejten belüli kötetlen, szabad volta is lényeges tétele. Ez kísérletes bizonyítékot is talált Hodgkin és Keyness (1953) munkájában. Ők K^{42} alkalmazásával kalmár axoplazmájában kimutatták, hogy a káliumnak legalább 90%-a kötetlen, mozgásra, diffúzióra képes állapotban található a sejten belül.

A membránpotenciál pontos mérésére a mikroelektróda technika bevezetése adott lehetőséget. Elsőnek Hodgkin és Huxley (1939), majd Curtis és Cole (1940) vittek be 30—50 μ-os elektródát kalmár gigantikus axonjának egyik végébe és mérték meg a nyugalmi potenciált. Az 1 μ körüli üvegmikroelektródák kidolgozása ugyanezt számos más objektum esetében is lehetővé tette. A 2. táblázatból látható, hogy annak értéke 60—90 mV körül mozog, miközben a sejt belseje a negatív.

2. táblázat

Különböző szövetek nyugalmi potenciál értékei

Szövetféleség	Nyugalmi potenciál nagysága (mV)	
Harántcsíkolt izom		
béka *(Rana temporaria)*		
m. sartorius	80—95	NASTUK és HODGKIN, 1950
béka *(Leptodactylus)*		
m. sartorius	85—103	HARRIS és MARTINS-FERREIRA, 1955
svábbogár lábizom	átlag 45	WILSON, 1954
Szívizom		
macska pitvarizom	60,4 ± 4,68	BURGEN és TERROUX, 1953
béka kamraizom	átlag 64,5	WOODBURY, HECHT és CHRISTOPHERSON, 1951
Simaizom		
macska terhes méhizma	átlag 29	WOODBURY és MCINTYRE, 1954
taenia coli	átlag 51,5	HOLMAN, 1958
Ideg		
macska motoros ideg	60,80	BROCK, COOMBS és ECCLES, 1952
béka n. ischiadicus	átlag 71	HUXLEY és STÄMPFI, 1951
béka szimpatikus rostok ...	50—80	NISHI és KOKETSU, 1960
svábbogár óriás axon	átlag 70,3	YAMASAKI és NARAHASHI, 1959

Jóllehet élettani körülmények között a Nernst-egyenletből számított membránpotenciál, mely a kálium intra- és extracelluláris koncentrációkülönbségét veszi alapul, megfelel a Donnan egyensúlyának és ez nagyjából megegyezik a mikroelektródákkal mért potenciálkülönbséggel is, a további vizsgálatok mégis a koncepció néhány jelentős elégtelenségére derítettek fényt.

A leglényegesebb probléma az extracelluláris kálium koncentráció változtatásakor jelentkezett. A külső kálium koncentráció emelésekor a potenciál nagysága bizonyos határig az egyenletnek megfelelően alakul, vagyis csökken, a kálium koncentráció csökkentésekor azonban a membránpotenciál bizonyos érték fölé nem nő, vagyis nem felel meg a Nernst-egyenlet által számított várható értéknek. Ezek a tények az elmélet további módosításának szükségességét vették fel.

Szükségessé vált eltérni attól az eredeti koncepciótól, hogy a membránpotenciál megalapozottságát csak a kálium ionok aszimmetrikus eloszlásában keressék. Szükségesnek látszott a Na^+ és Cl^- eloszlást, valamint a koncentrációkülönbségek mellett az ion-permeabilitást is figyelembe venni. HODGKIN és KATZ (1949) éppen ezért a BERNSTEIN-elmélet olyan módosítását javasolták GODMANN nyomán, mely a kálium mellett a nátrium és klór jelentőségét is figyelembe veszi, másrészt pedig számol a membrán különböző ionok iránti permeabilitásával is. Az egyenlet a következő:

$$E = 0{,}058 . \log \frac{P_K (K_i) + P_{Na} (Na_i) + P_{Cl} (Cl_o)}{P_K (K_o) + P_{Na} (Na_o) + P_{Cl} (Cl_i)}$$

mely tehát magában foglalja a nátrium és klór ionok koncentrációkülönbségének, valamint a membrán egyes ionok iránti permeabilitásának kifejezéseit is.

Meg kell jegyezni, hogy a nyugalmi potenciál ionelmélete még ilyen formában sem tud minden részletkérdésre választ adni. Ilyen probléma az, hogy ha pl. az izmot tartósan desztillált vízben tartják, akkor az elveszti a belső káliumtartalomnak 99%-át, az intracelluláris nátriumnak pedig 93%-át, az eredeti nyugalmi potenciálnak 56%-a azonban még ilyenkor is fennmarad (Tobiás 1950). Falk és Gerard (1945) NaCl-t és KCl-t injiciáltak béka sartorius rostba és azt találták, hogy a membránpotenciál szignifikánsan nem károsodik. Grundfest, Kao és Altamirano (1954) KCl-t, NaCl-t és kálium-asparatot vittek be *Loligo* axonba és lényegében ugyanezt találták. Ez sem magyarázható a membránpotenciál ionelméletével. Ugyancsak sok problémát okoz az, hogyha statisztikusan a membránpotenciál értéke meg is egyezik az elméletileg várhatóval, számos konkrét intra- és extracelluláris iontartalom meghatározás, valamint membránpotenciál mérés esetén a teoretikusan várható értékektől jelentős eltérés tapasztalható. Ezek és más problémák késztették Grundfest-et arra, hogy a membránpotenciál magyarázására új teóriát állítson fel. Ennek lényege az, hogy a nyugalmi potenciál elsőrendű és indító mechanizmusa a nátrium sejtből való kidobása, vagyis a Na-pumpa. Ez aztán szükségszerűen maga után vonja, mint következményt, az egyenlőtlen ioneloszlást a káliumra nézve is. Éppen ezért a káliumveszteség, amit az izom desztillált vízben való tartásakor tapasztaltak, az ionveszteség ellenére sem szükségszerűen szünteti meg a membránpotenciált, minthogy ez a beavatkozás csak részlegesen károsítja a nátriumpumpát. A membránpotenciál különböző anyagcsere mérgekre való reagálását — melyre e helyen nincs mód kitérni — szintén jobban magyarázni lehet ezzel a teóriával. Ugyanez vonatkozik bivalens ionokkal (Ca, Ba, Mg) végzett vizsgálatok eredményeire is.

A membránpotenciálnak egy másik, az ionelmélettel szembenálló magyarázata azt feltételezi, hogy az ionok koncentrációkülönbsége a kálium sejten belüli fixált kötésekhez való adszorpcióján alapul (Naszonov 1940, Trosin 1956, Ling 1959). Ez az elképzelés egy intracelluláris rendszert tételez fel, mely a káliumot fizikokémiai okok miatt jobban akkumulálná, mint a nátriumot. Ez utóbbi teória ellen igen kifejezett bizonyítékokat szolgáltatott Baker, Hodgkin és Show (1961) azon vizsgálata, melynek során a kalmár óriás axonjának protoplazmáját mesterséges sóoldattal cserélték ki. Azt találták, hogyha az intracelluláris térbe különböző koncentrációjú sóoldatokat vittek, akkor a mért nyugalmi potenciál bizonyos határok között jól megfelelt a Nernst-egyenletnek. Kiderült, hogy a nyugalmi potenciál változása az intracelluláris K^+ koncentrációval 50—150 mM mellett lineáris, az alatt vagy felett azonban

nem felel meg a Nernst-egyenletnek. Mindenesetre ez a kísérlet az ioneloszlás és a membránpotenciál közötti összefüggés, valamint a K^+ sejten belüli kötetlen, szabad voltát igen jól demonstrálta, legalábbis *Loligo* óriás axonjára vonatkozóan. Ezzel a nyugalmi áram membránelméletének lényeges tételeit támasztotta alá.

A nyugalmi potenciál itt vázolt értelmezése az elektrofiziológiai vizsgálómódszerek alkalmazása és az eredmények értékelése szempontjából alapvető jelentőségű, de nem kevésbé lényeges az akciós potenciál mechanizmusának értelmezése is.

3. Az akciós potenciál ionelmélete

Akciós potenciál alatt a membránpotenciál gyors változásait értjük, melyet rendszerint strukturális változások is követnek ugyanazon vagy más sejten. Ideg- és izomsejtek relációjában pl. gondolunk itt az izomrost kontrakciójára. A membránon bekövetkező gyors elektromos változások információ továbbítással kapcsolatosak, minthogy azok keletkezési helyüktől tovavezetődnek és specifikus hatások jelzéseiként szolgálnak, illetve azok kiváltásáért felelősek. Ha az akciós potenciált regisztráljuk, akkor azt látjuk, hogy az nem más, mint elektromos negativitási hullám. A membránelmélet kategóriáiban gondolkozva pedig a nyugalmi potenciállal rendelkező membrán depolarizációja, majd annak helyreállítódása (repolarizáció).

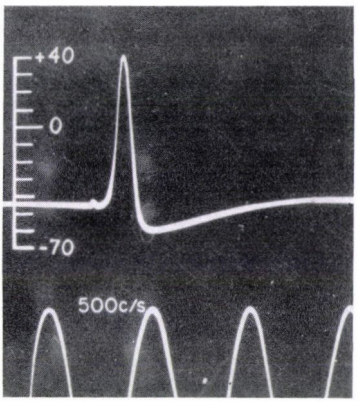
Az akciós potenciál keletkezésének alapmechanizmusára vonatkozó első érdemleges elmélet ugyancsak BERNSTEINtől származik, aki a nyugalmi áram ionelméletét is megalkotta. BERNSTEIN feltette, hogy az akciós potenciál idején az addig szelektíve permeabilis membrán minden ion számára átjárhatóvá válik, minek következtében az egyenlőtlen ioneloszlás megszűnik és a nyugalmi potenciál nullára esik. Eszerint az akciós potenciál nem más, mint az ideg depolarizációja. Következésképpen annak nagysága a membránpotenciálnál nagyobb nem lehet.

Néhány évtized múlva az intracelluláris elektródákkal végzett pontos mérések azonban meglepő eredménnyel jártak. Kiderült ugyanis, hogy a *Loligo* axonban az akciós potenciál kifejlődése során nemcsak depolarizáció jön létre, hanem a polaritás meg is fordul. Vagyis az akciós potenciál lényegesen nagyobb, mint a membránpotenciál (1. ábra). Ez rövidesen számos más idegen és izmon is bizonyítást nyert. Nyilvánvalóvá vált, hogy az eredeti hipotézist módosítani kell.

Egyesek arra tettek kísérletet, hogy a membrán ellenállása és kapacitása ismeretében analóg elektromos kört hozzanak létre, mely a nyugalmi potenciál működés alatti „túllövését" (overshoot) megmagyarázná. Ezt párhuzamosan kapcsolt ellenállás és kondenzátor áramkörbe való beiktatása reprezentálná, mely áramkörben az elektromotoros erő nullára esésekor a kondenzátor tulaj-

donsága miatt ellentétes irányú feszültség jön létre. Mások azt feltételezték, hogy a membránnak induktivitása van és ez okozza az overshoot-ot (polaritásmegfordulás). Megint mások a dolog kémiai oldalát helyezték előtérbe és úgy vélték, hogy a membrán töltéssel rendelkező részecskéinek (dipolok) megfordulása következik be az akciós potenciál idején, vagy pedig a membrán hirtelen permeabilissá válik minden a protoplazmában levő organikus anion számára és ez okozza a polaritás megfordulást.

A fentieknél egyszerűbb és a tényeket jól magyarázó elgondolás HODGKIN és KATZTÓL származik (1949), akik a korszerű membránelmélet megteremtői.



1. ábra. Loligo axon akciós potenciálja. Regisztrálás longitudinálisan bevitt fém-mikroelektródával történt (HODGKIN és HUXLEY, 1939)

Ennek lényege az, hogy az akciós potenciál idején a membrán a nátrium ionok számára permeabilissá válik, a Na^+ a sejtbe belép, minek következtében a sejt belseje pozitívvá válik. A Na^+ beáramlás miatt nemcsak a 70 mV nyugalmi potenciál tűnik el, de ugyanilyen nagyságú, ellenkező előjelű potenciálkülönbség előfeltétele is fellép, vagyis a potenciálváltozás — ha a membránpotenciál 70 mV —, akkor körülbelül 140 mV lehetne az eredetihez képest. Ez az elmélet kísérletileg is jól igazolhatónak bizonyult. Ha a kalmár axont különböző koncentrációjú NaCl oldatba helyezték, azt tapasztalták, hogy az intracelluláris mikroelektródával mért akciós potenciál nagysága a jelenlevő Na^+ koncentrációtól függött. Nevezetesen, ha a külső nátriumkoncentráció alacsony, akkor kicsiny az akciós potenciál nagysága is. Ennek magyarázata az, hogy a megnövekedett nátrium permeabilitás ellenére alacsony külső nátriumkoncentráció mellett annak sejtbe való beáramlása kisebb lesz mint normálisan, és ezért a potenciálváltozás sem éri el az egyébként tapasztalható szintet.

Az akciós potenciál nagyságát figyelembe véve azt tapasztaljuk, hogy az nem éri el az előbb említett 140 mV-ot, vagyis a nyugalmi potenciál két-

szeresét. Ennek oka az, hogy nemcsak a nátrium ionok lépnek be a sejtbe, hanem ezzel ellentétes folyamat is lezajlik. Már a nátrium ionok belépése idején káliumkiáramlás indul meg, ami a kialakuló potenciál nagyságát csökkenti. Izotópos vizsgálatokkal kimutatták, hogy ez lassúbb, mint a nátriumbeáramlás, minthogy ingerlés alatt a nátriumbelépés aránya 20-szorosra, a kálium kilépésé pedig csak 10-szeresre nőtt (HODGKIN és KEYNES, 1955).

Az akciós potenciál idején a membránon át mérhető potenciálkülönbség (membránfeszültség) változása során változik a membrán egyes ionokra érvényes permeabilitása is, vagyis az egyes ionok membránon való áthaladásának mértéke (ionáramok). A membránfeszültség fixálása (voltage-clamp technika) útján rögzíteni lehet az ionáramok nagyságát, s ezáltal azok mérése megoldható.

Ezen módszer alkalmazásával megállapítást nyert, hogy az akciós potenciál során, 15—110 mV-os fixált depolarizáció esetén, kezdetben egy befelé, majd egy kifelé irányuló ionáram jön létre. A további vizsgálatok kiderítették, hogy a sejt belseje felé irányuló ionáram a Na^+-ionok beáramlásával kapcsolatos és ez felelős az akciós potenciál felszálló száráért,vagyis a depolarizációért és a potenciál megfordulásáért. Az akciós potenciál leszálló szára pedig a kifelé irányuló ionárammal kapcsolatos, ami viszont, a K^+ sejtből való kilépésével függ össze.

Összefoglalva tehát úgy tűnik, hogy a membrán nyugalmi állapotból aktívba való átmenete azzal jár, hogy a P_{Na^+}/P_{K^+} permeabilitási arány, a nyugalmi 0,1-ről 5—10-re változik, minek következtében gyors Na^+ beáramlás, majd 5—10-szerte lassúbb K^+ kiáramlás indul meg a membránon át. Az akciós potenciál növekedése (felszálló szára) tehát a membrán nátrium iránti megnövekedett permeabilitásával függ össze. Ezzel egyidejűleg egy „inaktivációs" rendszer is működésbe lép, mely megnöveli a kálium permeabilitást, ami a nyugalmi potenciált lényegében az eredeti szintre állítja vissza. Ez utóbbival függ össze az akciós potenciál leszálló szára.

A voltage-clamp technikát idegsejtre is alkalmazták. Egy *Mollusca (Onchidium verruculatum)* idegsejtjeinek vizsgálata során HAGIWARA és SAITO (1959) ugyanazt találták, mint HODGKIN és HUXLEY óriás axonon, ami azt mutatja, hogy a sejttest az akciós potenciál mechanizmusát illetően lényegében nem különbözik az axontól.

Fentiekből az is kitűnik, hogy az akciós potenciál lezajlása alatt az intracelluláris nátriumtartalom nő, a káliumtartalom viszont csökken. Ennek a helyzetnek a kompenzálására szolgál a már korábban említett nátriumpumpa olyan módon, hogy az így bejutó nátriumot aktive kidobja a sejtből. Bizonyos vizsgálatok arra utalnak, hogy a nátrium kidobása és a kálium visszaáramlása kapcsolatban van egymással, minthogy az extracelluláris káliumkoncentráció csökkentése nemcsak a káliumvisszaáramlást, de a nátriumpumpát is lassítja. Minthogy a nátriumkidobást anyagcserére ható

anyagokkal befolyásolni lehet, ez arra utal, hogy valami aktív, metabolikusan biztosított mechanizmusról van szó.

Számos vizsgálat utal arra, hogy a membrán permeabilitásának szabályozásában más ionoknak, elsősorban a Ca^{++}-nak is szerepe van. Ennek tárgyalásától azonban jelen előadásban kénytelenek vagyunk eltekinteni.

Úgy véljük, hogy a nyugalmi és az akciós potenciál fentiekben adott vázlata elégséges ahhoz, hogy az elektrofiziológiai módszerek elvi megalapozottságát és az elemi ingerületi jelenségek főbb problematikáját ismertté tegye. Az ideg- és izomelemekben lezajló speciális mechanizmusokban: a receptor működésben, ingerületvezetésben, interganglionális és neuromusculáris ingerületáttevődésben a két alapjelenség sajátosan módosult, de elvileg nem eltérő formáival találkozunk. Éppen ezért ezek értelmezése, még ha az minden kérdésre választ adni nem is tud és egyik-másik tétele csak hipotézisnek fogható fel, mindennemű elektrofiziológiai módszer alkalmazásának alapvető követelménye napjainkban.

II.

A neurofiziológia sejtszinten történő művelésének lehetőségeit KATO (1934), majd HODGKIN és HUXLEY (1939) módszere nyitotta meg. KATO velőhüvelyes axont izolált és ennek tulajdonságait tanulmányozta. HODGKIN és HUXLEY tintahal óriás idegrostjába hosszanti irányú ezüstelektródát vezetett be. Ez az elektróda a nyugalmi és akciós potenciál intracelluláris elvezetésére alkalmas volt.

Az axonok hosszú, szálszerű alakjához alkalmazkodó módszerek jóllehet jelentős önálló fejlődést futottak be — nem bizonyultak alkalmasnak a kisméretű és változatos alakú idegsejtek elektromos sajátságainak vizsgálatára.

1946-ban GRAHAM és GERARD, ill. 1948-ban LING és GERARD hegyesre húzott végű üvegkapillárissal, melyet izotóniás KCl-dal töltöttek, egyetlen izomrost nyugalmi és akciós potenciálját egy intracelluláris mérési pont és az extracelluláris tér között regisztrálni tudták.

A módszer ma széles körűen elterjedt. Egyetlen ilyen 0,05—1,5 μ csúcsátmérőjű elektróda kisméretű sejtekbe vagy igen pontosan sejtek bizonyos részei közelébe (extracellulárisan) vezethető és ingerlésre, ill. elvezetésre egyaránt jó. Az elektróda töltete szinte tetszés szerint változtatható. Egyetlen sejttel végzett kísérletben nemcsak egy, hanem több (kettő—öt) elektróda is alkalmazható. Az üvegkapilláris mikroelektródákkal sejtek nyugalmi és akciós potenciálja tartósan vizsgálható. Mérhető ezenkívül a sejthártya ellenállása, kapacitása, vezetőképessége bizonyos ionokkal szemben, ezenkívül a sejthártyán átfolyó ionáram különböző funkcionális feltételek mellett. Sejtekbe mikroelektródák segítségével különböző anyagok injiciálhatók. Az üveg anyagának megválasztásával intracelluláris H^+, K^+, Na^+ ionkoncentráció

mérése lehetséges. Több elektródával egyidejűleg egy sejt különböző részeinek, ill. egy sejtnek az aktivitása kívülről és belülről, vagy pedig több sejt aktivitása vizsgálható. Nyilvánvaló, hogy a módszerek kombinálása igényes feladatok megoldását is lehetővé teszi. Azonban a kis méretek és a sejtek elektromos tulajdonságai bonyolult elektronikai problémákat vetnek fel, amelyek megoldása jó műszerezettséget, kiváló minőségű alkatrészeket követel.

1. Üvegmikroelektródák készítése és tulajdonságai

Ahhoz, hogy lényegesen károsítás nélkül tudjunk egy sejtbe behatolni, a sejt nagyságától függően 0,05—2 μ csúcsátmérőjű és 10—20 μ hosszúságú szakaszon a 3 μ-t meg nem haladó átmérőjű elektródákra van szükségünk. Az elvezetést az elektródába töltött elektrolit biztosítja, a környezettől való szigetelést az üvegfal. Ilyen csúcsátmérő csak speciális üvegfajtákkal érhető el, amelyeknek lineáris hőtágulási együtthatója $30—40 \times 10^{-7}$ értékű, ugyanakkor közömbös tulajdonságú is kell hogy legyen (pl. ionok az üvegfalról ne szabaduljanak fel stb.). Ezeket a követelményeket bizonyos Pyrex, Rasotherm, Supremax (Schott) és a moszkvai üvegtechnológiai intézet 203-as számú üvege kielégíti. Az üveget a kihúzás előtt gondosan tisztítani kell. Az 1,5—3 mm külső átmérőjű üvegcsöveket (a falvastagság a külső átmérő 25—35%-a) lehet kézzel, de jobb automatával kihúzni. Az üvegcsövet függőleges vagy vízszintes helyzetben erősen szorító pofákba fogják és 2—4 mm szakaszon, lágyulásig spirális Pt huzallal hevítik. A húzóerő pontosan tengelyirányú kell hogy legyen. A kihúzott üvegcső csúcsátmérője és profilja az üveg anyagától, méreteitől, a hevítés, húzás mértékétől és vezérlésétől függ. Ezen tényezők összhangját empirikusan lehet biztosítani.

Az elektróda csúcsátmérőjét fénymikroszkóp alatt lehet kontrollálni vízimmerzióval, vagy levegőben, Newton-gyűrűk megjelenése alapján. Ez 1 μ alatti csúcsátmérőt jelent.

Az elkészült elektródát nem túl nagy ellenállású vezető oldattal kell megtölteni. Az erősítés amúgy is nehéz problémáját csökkentendő 3 M-os KCl oldatot szoktak alkalmazni. Ez azt eredményezi, hogy 0,1 μ csúcsátmérő mellett az ellenállás a 100 MΩ-ot nem haladja meg, és általában 10—30 MΩ-os elektródák 1 μ alatti csúccsal, jó üvegből könnyen elkészíthetők. A majdnem telített KCl oldat azonban hamar kristályosodik és ezért a végső töltés elé metilalkoholt, ill. deszt. vizet szoktak iktatni, majd néhány órával a kísérlet előtt helyezik az elektródákat a KCl oldatba.

A töltés heggyel lefelé, forralással, gyenge vákuum mellett történik. Természetesen a vizsgálat céljától függően más elektrolittal is megtölthetők az elektródák (Kosztyuk, 1960).

Az elkészült elektróda kis csúcskeresztmetszete miatt a K-ion kicsurgás kisfokú (10^{-14} mól/sec). Ez az intracellularis K^+ koncentrációt (0,1 M nagyság-

rendű) nem befolyásolja lényegesen. Attól függően, hogy milyen üvegből készült az elektróda, kb. 5m V nagyságú negatív töltéssel rendelkezhet, amely értéket pontos mérések esetén számításba kell venni (tip-potenciál) (ADRIAN, 1956).

2. Az elektróda bevitele és a beszúrás helyének kontrollja

A mikroelektróda bevitelére mikromanipulátorokat, stereotaxiás készüléket vagy hidraulikus előtolású fecskendőrendszert szoktak alkalmazni. A bevitel kívánt irányának megfelelően egyik vagy másik módszer ajánlható. A legsokoldalúbb, bármilyen irányban alkalmazható és μ pontosságú a hidraulikus előtolás, amely úgy történik, hogy egy fecskendő durva, másik fecskendő finom előtolást biztosít megfelelő térfogat áttétellel. A harmadik fecskendőre az elektróda kerül. A folyadék légmentes paraffinolaj.

Gondoskodni kell a bevitel mikroszkópos kontrolljáról, nagy gyújtótávolságú objektívekkel. Sok esetben (óriás idegsejtek) a sejtek mikroszkóp alatt igen jól láthatók.

Gondot okozhat bizonyos ganglionok kötőszövetes burkán való áthatolás, mert akár a burok lehántása, akár finom emésztése (tripszin, hyase) a felületen fekvő sejteket károsítja.

Feltétlenül megvalósítandó a preparátum mozgásának meggátlása, amely eredhet az asztal rezgéséből, izomösszehúzódásból, légzőmozgásból és pulzusingadozásból. Esetenkint léteznek elég jó megoldások a rezgés- és mozgásmentesség elérésére.

Annak megállapítására, hogy az elektróda hol volt az elvezetés idején, szövettani kontroll szükséges. A csúcs helyét a kísérlet befejeztével jelezni kell. Fémelektródák esetében ez könnyű lenne, mert a fémnyomokat elektrolízissel növelni lehet, majd a fémet színes kémiai reakcióval ki lehetne mutatni. Üvegelektródák alkalmazása esetén előbb fémionokat kell a kísérlet végén bejuttatni, ami igen nehézkes és a kísérletet meg-megszakítaná. Ajánlják a ferroammoniumcitrátos töltést, amely az elvezetést és a sejteket nem károsítja, továbbá nyomai kimutathatók (KOSZTYUK, 1960).

3. Az erősítés problémái

A mikroelektródákkal történő vizsgálatok jelentősebb problémái elektronikai és részben elektrokémiai jellegűek (ez utóbbiakról már szó esett).

A nyugvó vagy aktív sejt belseje és külseje közötti potenciálkülönbség méréséhez, mint minden potenciálkülönbség méréséhez, két elektróda szükséges. Az egyik az intracelluláris mikroelektróda, a másik az előbbivel az extracelluláris téren és sejtmembránon keresztül összeköttetésben levő indifferens elektróda. Ez utóbbi AgAgCl. Az elektrokémiai eredetű zavaró potenciál-

különbségek ellen agarhidakat szoktak alkalmazni, amelyekkel ezek megnyugtató módon kiiktathatók.

A fenti elektródapárral történő elvezetés elektronikai természetű problémái az erősítő bemenő fokozatával kapcsolatosak. Ezek a problémák a sejtek belső ellenállásával, az akciós potenciál gyors időbeli lefolyásával, az első elektroncső ún. rácsáramával és az erősítő bemeneti kapacitásával kapcsolatosak (DONALDSSON, 1958; BURES és munkatársai, 1960; KOSZTYUK, 1960).

Nyilvánvalóan olyan erősítőre van szükség, amely időben nem változó potenciálszint különbségeket, mint a nyugalmi potenciál, és időben viszonylag gyorsan, 1 msec alatt akár 130 mV potenciálkülönbség változásokat, mint egyes akciós potenciálok, egyaránt veszteség nélkül jelez, ráadásul olyan jelforrásból, amelynek a belső ellenállása 10 MΩ nagyságrendű. Erre speciális bemenetű egyenáramerősítők jók.

Külön-külön vizsgáljuk meg az egyes tényezők jelentőségét. Közönséges erősítő 1 MΩ nagyságrendű bemenő ellenállása esetében, mivel a mikroelektróda ellenállása 10 MΩ nagyságrendű, kb. 10%-ára csökken a feszültségosztás miatt a jel. 100 MΩ bemenő ellenállás esetében a jel 90%-a marad meg, ami még pontatlan, így legalább 1000 MΩ bemenő ellenállásra van szükség ahhoz, hogy ez a faktor ne okozzon 1%-nál nagyobb hibát, és hogy ne kelljen túl nagy erősítést alkalmaznunk, ami DC erősítők esetében főleg a nullpont-eltolódás miatt probléma. Általában 10^9—10^{14} Ω bemenő ellenállást szoktak alkalmazni.

Az egyenáramu erősítőknél a fokozatok csatolásában sem kapacitív, sem induktív elem nincs. Ennek ellenére a bemenő fokozatban az első elektroncső elektródái és a föld között parazita kapacitások találhatók, amelyek jelenlétének az lesz a következménye, hogy gyors jelek nagyobb veszteséggel jutnak át az erősítőn. Tehát, ha a nyugalmi potenciált egyébként még tudjuk is mérni, az akciós potenciál esetében veszteség lép fel. Általában követelmény, hogy az akciós potenciál felszálló szárának idejénél 5—6-szor rövidebb idő alatt változó potenciálingadozást veszteség nélkül át tudjunk vinni (felső vágás 5—10 kHz). Ez önmagában nem lenne komoly elektronikai probléma, de egyéb követelményekkel együtt bonyolult és speciális kapacitással visszacsatolt erősítőt követel, amely a bemenő kapacitást kompenzálni képes (HAAPANEN és OTTOSON 1954, BAK 1958).

A legnehezebb probléma a bemenő elektroncső rácsáramának kiküszöbölése. A rácsáramok a cső elektron- és ionfolyamataiból erednek és ez nemkívánatos töltésmozgást jelent a csőballonon belül, a rácskivezetés szigetelésén és a ballonon kívül is. A töltésmozgás közönséges csöveknél az 1 μA-t is meghaladja, de intracelluláris elvezetés esetében kisebbnek kell lennie mint 10^{-12} A.

Ez utóbbi kívánalom válogatottan jó elektroncsövet jelent. Azok az elektroncsövek, amelyek minden további nélkül biztosítják az alacsony rácsáramot a fentinél lényegesen nagyobb mértékben is, az elektrométercsövek

— melyek kiváló vákuummal és szigeteléssel készülnek — anód- és fűtőfeszültségük alacsony.

A bemeneti fokozatok kapcsolása katódcsatolású legyen, vagy egyéb elektrometrikus üzemmód. Ezek biztosítják jó cső mellett a nagy bemenőellenállást, kis bemeneti kapacitást és kis kimeneti ellenállást. Azonban egyáltalán nem erősítenek, csupán impedanciatranszformációt végeznek, sőt jelátvitelük jó, ha 0,8—1 között van. A bemenő kapacitás további csökkentésére pozitív visszacsatolást szoktak alkalmazni. A bemenő fokozat után 3—4 jól szerelt szimmetrikus fokozat DC csatolással biztosítja a szükséges minőségű és 5 000—10 000-szeres erősítést. Gondot kell még fordítani a bemenő fokozat speciális árnyékolására (ún. katódárnyékolás).

A bemenet rácsához megfelelő elektrokémiai óvintézkedésekkel csatolt mikroelektróda bevitele előtt 3 feladatot kell megoldani. *a)* Az elektród ellenállásának a mérését (10—30 MΩ megfelelő). Ez felvilágosítást ad a csúcsátmérőről is. *b)* Rácsárammérés azért fontos, mert bizonyos méretű sejtek esetében bizonyos rácsáram mellett eleve nem lehet mérni, ill. elvezetni nyugalmi és akciós potenciált. *c)* Az erősítést ellenőrizni és hitelesíteni kell feszültségkalibrátorral.

A mikroelektródellenállás és a rácsáram kielégítő pontosságú mérését az alábbi módon oldhatjuk meg: a rácskörbe kapcsolt ismert ellenállások és a mikroelektróda ellenállása, ill. a szigetelési ellenállás mentén nézzük a kalibrációs áram, ill. a rácsáram okozta feszültségesést. A párhuzamos kapcsolásban egyszer az áram ismeretlen (rácsáram), másszor az egyik ellenállás (mikroelektróda ellenállása).

4. A sejt passzív elektromos sajátságainak mérése

Az ideg- és izomszövet passzív és aktív elektromos struktúrájának vizsgálata nagy elméleti jelentőségű. Annak ismerete, hogy ideg- és izomsejtek elektrogenezisét milyen modell, milyen helyettesítő kapcsolás írja le, tehát, hogy milyen kapcsolatban vannak ellenállások, kapacitások és generátorok, és ezek tulajdonságai időben és térben hogyan változnak, az ideg- és izomsejtek ingerületi folyamatainak megértése szempontjából szükséges, jóllehet nem elég. Aminek ismeretére még szükség van az, hogy az anyagcserefolyamatok kémiai energiájának transzformációja az elektromos változással járó ingerületi energiává hogyan megy végbe.

A mikroelektrofiziológia fejlett módszerei mély következtetések levonását megengedő kísérletek végzését teszik lehetővé és a sejtek elektromos struktúrájának vizsgálatára néhány alapvető módszert kínálnak.

A mikroelektróda-metodika előtt főleg annak alapján vizsgálták a szövetek elektromos struktúráját, hogy az ingerlékeny szöveten szinuszos váltóáramot engedve át, észlelték, hogy annak paraméterei (amplitúdó, fázis) megváltoznak.

A változás alapján a szöveti impedancia nagysága kiszámítható. Ezzel a módszerrel széles körű vizsgálatokat sok szerző végzett. Már HŐBER megállapította (1910), hogy a frequencia növekedésével a szövetek ellenállása csökken. Ennek alapján következtethető, hogy a sejtek equivalens sémájában párhuzamosan kapcsolt kapacitás és ohmikus ellenállás van jelen. Magas frequenciákon ez a komplex ellenállás egy határértékhez tart (Z_∞). Az eredmények quantitativ elemzése és finomítása lehetőséget nyújt a passzív elemek külső vagy belső, ill. határfelületi (sejtmembrán) értékének mérésére. Pl. a sejtmembrán kapacitásának értéke 1 μF/cm^2 körüli (CURTIS és COOLE 1938).

Jelentősége van annak, hogy az ingerlékeny szövet mentén (pl. egy axon tengelye irányában) hogyan oszlik el ingerlés vagy spontán, fiziológiás aktivitás során a potenciál. Ha egy adott időpontban az ideg egy adott keresztmetszetén adott nagyságú a potenciálkülönbség vagy annak időbeli változása, akkor RUSHTON nyomán (1934) quantitative kifejezhető adott időpillanatban a potenciál térbeli eloszlása, amely velőhüvelymentes axonon exponenciálisan csökken az ingerlő katód két oldalán, míg velőhüvelyes axon mentén ugrásokat tapasztalunk. Az eljárás makro- és mikroformában (egyetlen axonon) lényegében az egyenáramú polarizáció térbeli eloszlásának a méréséből áll, extracelluláris nem polározó vagy intracelluláris elektródákkal. Ezek a vizsgálatok és a módszer előkészítője volt HODGKIN és HUXLEY később tárgyalandó ún. voltage-clamp eljárásának, amely a potenciál térbeli és időbeli változásának megakadályozása útján a sejtmembránon átfolyó ionáramok mérését tette lehetővé.

Az egyik leghatásosabb módszer a sejtmembrán és protoplazma impedanciájának ill. vezetőképességének a vizsgálatára, intracelluláris mikroelektródokkal, négyszöghullámú impulzusok terjedésének és torzulásának a vizsgálatán alapul (3. ábra).

A módszert óriásaxonra HODGKIN és RUSHTON dolgozta ki (1946). Jelenleg üvegkapilláris elektródákkal idegsejteken és izomrostokon is alkalmazzák. A vezető idegrost vagy izomrost modellje ebben az esetben egy telefonkábelhez hasonló. Az axonnak van egy hosszú vezető magva (protoplazma) és egy felületi eltérő tulajdonságú rétege (sejtmembrán), amely párhuzamos és eléggé nagy ellenállást, kapacitást és az egyikkel soros generátort tartalmaz. Az axont ohmikus ellenállású folyadékvezető veszi kívülről körül. A membránellenállás kis áramátfolyás esetén állandó marad és a membránkapacitás ideálisnak mutatkozik. Ezen feltevések alapján a membránt statikusan leíró négy kifejezést kapnak, amelyekben szereplő paraméterek: membránellenállás, protoplazmaellenállás, extracelluláris vezetőképesség és membránkapacitás kiszámíthatók. Pl. izomrostok esetében a meghatározás úgy történik, hogy egymástól ismert távolságban levő csúccsal két-három mikroelektródát szúrnak be egyazon izomrostba. Az egyik elektróda és az indifferens elektróda közé ismert ideig ismert nagyságú négyszögáramimpulzust kapcsolnak. A másik elektródán

vizsgálják a sejt külseje és belseje közti négyszög alakú potenciállépcső kialakulását. Az áram és potenciálimpulzus nagyságából és torzulásából az említett paraméterek kiszámíthatók és az axon vagy idegsejt viselkedése quantitative leírható. Az újabb munkák közül önkényesen kiragadva egyet, V. A. MAJSZKIJ (1963) eredményeit említjük meg, aki béka sartoriuson 5 $K\Omega/cm^2$ membránellenállást és 5 $\mu F/cm^2$ kapacitást, kerti csiga idegsejtjein pedig 1 $K\Omega/cm^2$ membránellenállást és 30 $\mu F/cm^2$ membránkapacitást mért. A sejtenkint eltérő kapacitás és ellenállásértékek alak, méret, ill. a funkció eltérő voltának következményei. Megjegyzendő, hogy idealizálás után az idegsejtek alakja semmiesetre sem kábelnek, hanem legfeljebb gömbnek tekinthető, míg az axon és izomrost jó modellje a kábel.

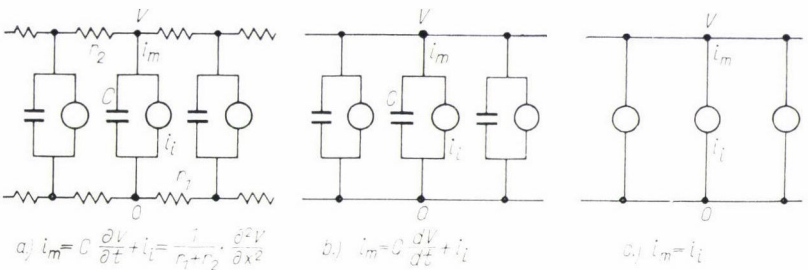
5. Ionáramok mérése (Voltage-clamp módszer)

A módszert nagyméretű velőhüvelymentes axonokra dolgozták ki először, longitudinális fémelektródákkal (MARMONT 1949, COLE 1949, HODGKIN, HUXLEY és KATZ 1952). Ma idegsejteken (TAUC 1962), velőhüvelyes axonokon és izomrostokon (FRANKENHAUSER 1963) is alkalmazzák.

A módszer lényege a következő: a vizsgált objektum (axon, izomrost, idegsejt) membránpotenciálját a nyugalmi értékekről hirtelen bizonyos értékkel megváltoztatják és egy feedback erősítővel egy adott értéken tartják. Eközben mérik, hogy milyen áram folyik a membrán egy meghatározott területén át (kifelé, ill. befelé).

Annak megértése céljából, hogy mi tette szükségessé a módszer bevezetését (a membránpotenciál tér és időbeli fixálását), bizonyos meggondolásokat kell tenni (COLE és MOORE 1960).

Egyetlen idegrost viselkedésének a matematikai leírására Kelvin úr. kábelegyenletét próbálták alkalmazni (2. ábra, a):



2. ábra. Az axon egy elektromos analógja és a megfelelő kábelegyenlet, *a)* egyszerű elvezetés során, *b)* ideálisan felfekvő elektródok mellett (tér-zár), *c)* voltage-clamp feltételek mellett (tér és időzár) (K. S. COLE és J. W. MOORE, 1960)

$$i_m = \frac{1}{r_1 + r_2} \cdot \frac{\partial^2 V}{\partial x^2} = C \frac{\partial V}{\partial t} + \frac{V}{r_3} = C \frac{\partial V}{\partial t} + i_i$$

Az egyenlet a membrán külső és belső oldala közti potenciálkülönbség tér és időbeli (tehát teljes információt adó) leírását adta és 4 paramétert tartalmazott: a külső környezet ellenállását (r_1), a protoplazma specifikus ellenállását (r_2), a membrán specifikus ohmikus ellenállását (r_3), és a membrán specifikus kapacitását (C). A parciális nem lineáris differenciálegyenlet kezelése és a numerikus megoldások ellenőrzése problematikus volt, ezért korán felmerült az igény (BARTLETT 1945), hogy a potenciál térbeli eloszlásának útját állják, azaz legalább bizonyos szakaszon és legalább bizonyos ideig ne legyen potenciálkülönbség külön-külön az axon külső pontjai között és külön-külön az axon belső pontjai között.

Ezt ideálisan az axonmembránra fekvő elektródák biztosítják. Így az egyenlet egyszerűbb lesz (2. ábra, b), a matematikai leírás könnyebb, és ha kísérletesen ez megvalósítható, akkor az axon külső equipotenciális és belső, a külsőtől eltérő potenciálú, de ugyancsak equipotenciális felületei között a sejtmembránon, az axolemmán átfolyó membránáram mérhető.

Az akciós potenciál idején a sejtmembrán külső és belső oldala közti potenciál időben változik és tovaterjed (tehát térben is változik). A membránon áthaladó ionokkal szembeni permeabilitás és a membránon észlelhető feszültségesés között szoros kölcsönös kapcsolat van. Bármelyik változása maga után vonja a másik változását. Ha a membránpotenciált bizonyos értéken fixálni tudnánk az akciós potenciál ideje alatt, akkor az ionokkal szembeni vezetésnek is fixáltnak kellene maradni, ill. ha az akciós potenciál lefolyásának valamely idő pillanatában a K^+, Na^+, Cl^- stb. ionokkal szembeni permeabilitása változik, azt meg tudjuk határozni, mert a membránkapacitás hatása kiesik (2. ábra, c). Ugyanis a sejtmembránon átfolyó áram HODGKIN és munkatársai (1952) szerint két összetevőből áll (első kapacitív tagból és az ionáramból: i_i):

$$I_m = C \frac{\partial v}{\partial t} + i_i$$

Ennek kísérleti megvalósítására két rendszerre van szükség (3. ábra):

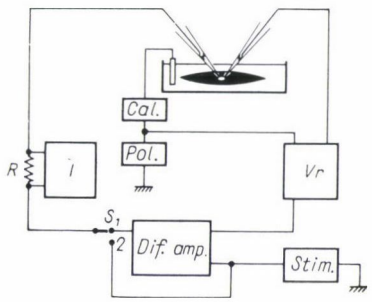
1. A membránpotenciált időben és lehetőség szerint térben is fixáló rendszerre:

a) négyszöggenerátor, *b)* visszacsatoló erősítő, *c)* jól fekvő elektródák.

2. Árammérő rendszerre, ami a fixáláshoz szükséges áramot méri.

Ilyen rendszert tökéletlenebb formában MARMONT (1949), majd jelentős eredményeket is szolgáltató formában HODGKIN, HUXLEY és KATZ (1952) valósított meg.

HODGKIN és munkatársai óriás axonba két vékony ezüsthuzalt szúrtak, amelyek egymással nem érintkeztek. Az egyik elektróda regisztrálta a membránpotenciál változását és ezt csatolták vissza egy másik elektródán át, amely árammal látta el a membránt. Az áramelektródával sorosan egy ellenállást kapcsoltak, amelynek két pontján mérték az áram által létrehozott feszültségesést. Az áram értékét Ohm törvénye alapján kiszámították. A visszacsatoló erősítő és egy négyszöggenerátor működése nyomán a membránon egy lépcsőszerű potenciálváltozás jött létre. Az eredmények az alábbiak voltak: pl. ha 43 mV-tal hiperpolarizálták a membránt, akkor csak a maradék membrán-



3. ábra. Izomvéglemez-potenciál és áram mérése két intracelluláris elektródával (Y. OOMURA és TOMITA, T., 1960).

V_R	— előerősítő
I	— árammérő erősítő
Cal.	— kalibrátor
Pol.	— polarizáló áramforrás
Stim.	— négyszögingerlő
Dif. Amp.	— differenciál-erősítő voltage-clamp-hez
S	— kapcsoló (1. állás voltage-clamp kísérlet, 2. állás membránimpedancia mérése)

kapacitást jelző kisfokú áramváltozást észlelték. Ugyanilyen mértékű (43 mV) depolarizáció esetén ezt az akciós potenciálra jellemző ionáram, azaz kb. 1 mA/cm² amplitúdómaximummal (maximum kb. 0,8 msec-nál) bíró befelé, majd kifelé irányuló áram is követte. Mindez akkor van így, ha az axont tengervízben tartották. Ha a tengervízből a Na-t kihagyták (de az izotónia miatt cholinnal pótolták), a befelé irányuló fázis elmarad. A jelenség reverzibilis. Ugyanez érhető el kb. 110—115 mV depolarizációnál is (Na-potenciál). A fő következtetés az volt, hogy az akciós potenciál felszálló szárának idején a Na^+ befelé mozog az axonba, majd később érvényesül a K^+ kiáramlás.

A membránpotenciál vezérlésének pontossága 1 mV-nál jobb kell hogy legyen, mert 1 mV eltérés 20%-os változást okozhat a membránáramban (COLE és MOORE 1960). További követelmény, hogy a mérés idején a membrán kapacitásával az elektródák a lehető legdirektebb kapcsolatban legyenek,

ami azt követeli, hogy az indifferens elektróda is közel essen a membrán külső felszínéhez. Egyetlen vezérlő, fixáló elektróda alkalmazása azt jelenti, hogy a kontroll alatt tartott terület kiterjedése véges, sokszor kisebb, mint 1 mm axonszakasz. Ez lényegében azzal jár, hogy a térbeli fixálást nehezebb megvalósítani, mint az időbelit. Továbbá azt is jelenti, hogy a nem kontrollált és kontrollált axon vagy izomrost szakaszok között bonyolult kölcsönhatás van (COLE és MOORE 1960).

Ugyanezen az elven alapuló eljárás üvegmikroelektródákkal odavezetett, hogy COLE (1958) 5—10 mA/cm^2 be-, ill. kifelé irányuló ionáramot tudott mérni.

Azonban üvegmikroelektródák alkalmazásakor új probléma lép fel. A közeli két üvegelektróda között káros kapacitás van, ami elektronikai nehézséget jelent, de az ún. keresztkompenzálással részben kiküszöbölhető.

Az elektródákkal kapcsolatos újabb követelmények, továbbá a visszacsatolás pontosságának igénye műveleti és elektrométer erősítők használatát tették szükségessé, a kísérleti adatok pontos és gyors kiértékeléséhez pedig analóg számológépeket kell alkalmazni. Pl. COLE (1960) mérőrendszere összesen 7 erősítőt tartalmaz (elektrométer, ill. műveleti erősítőket).

Érdekesnek mutatkozik a voltage-clamp technika alkalmazása neuronok esetében. Itt a térbeli potenciálfixálás megvalósítása még nehezebb.

6. Ionok elektroforetikus mikroinjekciója

Szervetlen és szerves ionokat ideg- és izomsejtek közelébe, vagy a sejtek belsejébe elektroforetikus úton először NASTUK (1953) vitt. Az eljárásnak sok előnye van. Pontosan meghatározott időpontban és ideig, jól meghatározott helyre, pontosan mérhető, igen kis mennyiségű (néhány 10 000) ionizált molekulát lehet injiciálni. A bevitt anyag mennyisége arányos a mikropipettán áthaladó összes töltésmennyiséggel (K. KRNJEVIC, J. F. MITCHELL és J. C. SZERB 1963).

Az eljárás lényege a következő: a kívánt elektrolittel töltenek meg egy kapilláris mikroelektródát. A preparátumot borító fürdőfolyadékba merül egy indifferens elektróda. Az elektrolittel töltött kapillárist a kívánt sejtbe vagy sejt közelébe viszik. Ha a két elektróda közé megfelelő nagyságú és polaritású feszültséget kapcsolnak (négyszögimpulzust vagy tartósabban egyenfeszültséget), akkor a kapillárisból az ionok az indifferens elektróda felé mozognak és így kijutnak a vizsgált sejtbe vagy a vizsgált területre. Ha pl. az indifferens elektróda negatív, akkor kationok jutnak be a sejtbe vagy a sejt közelébe.

Az elektródákat általában 0,2—3 M-os oldatokkal töltik és 10^{-7}—10^{-8} A árammal 0,5 ms—100 sec ideig injiciálnak. Az injiciáló áramot érzékeny galvanométerrel vagy DC erősítővel kontrollálják.

Az injekció hatását általában egyidejűleg a sejtbe szúrt mikroelektródával regisztrálják, de az injekció befejeztével maga az injiciáló elektróda is alkalmas intracelluláris elvezetésre.

Az üvegkapilláris végén a diffúzió és a hidrosztatikai nyomás miatt spontán, áram nélkül is kiszabadul bizonyos anyagmennyiség (K. KRNYEVIC, J. MITCHELL és J. C. SZERB 1963). Ennek megakadályozása céljából ellenfeszültséget kapcsolnak az injiciáló áramkörbe, jóllehet ilyenkor az ellentétes ion mozgása számára javulnak a feltételek.

Az extracelluláris iontoforézis jelentősége abban áll, hogy egyazon sejt mentén (pl. izomrost) kimutathatók valamely mediátorra nézve különösen érzékeny területek vagy farmakológiai különbséget lehet tenni a központi idegrendszer egyes sejtjei között. Mindezek az eredmények vérpályába vagy fürdőfolyadékba juttatott anyagok alkalmazásával nehezen vagy nem érhetők el.

Az intracelluláris elektroforézis alkalmazásának jelentősége más. Egyrészt vizsgálható mediátor anyagok intracelluláris hatása, másrészt vizsgálható bizonyos sejtek határfelületének permeabilitása kationokra és anionokra nézve különböző funkcionális állapotokban. Az így nyert adatok a sejtpermeabilitás elmélete szempontjából fontosak. Tintahal, ill. rák óriásaxon esetében megvalósították az intracelluláris perfúziót, amely azonban sejteken, azok alakja és méretei miatt jelenleg nehezen megoldható. Ennek a módszernek külön fejlődése van, jelentősége az intracelluláris elektroforéziséhez hasonló (BAKER, HODGKIN, SHAW 1961).

Az alábbiakban felsorolunk néhány nevezetesebb eredményt, mely a mikroiontoforézissel kapcsolatos:

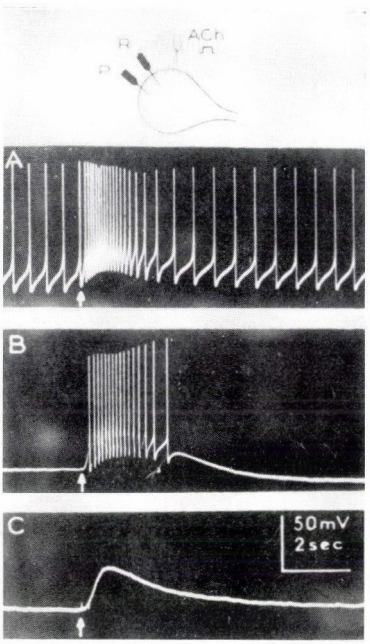
1. DEL CASTILLO és KATZ (1954—57) béka vázizom véglemezének területén ACh érzékeny receptorokat mutattak ki az ACh ionoforetikus mikroapplikációjával extracellulárisan. Kimutatták, hogy az ACh hasonló véglemezpotenciált hoz létre, mint a preszinaptikus elektromos ingerlés. Kimutatták, hogy a mediátor intracelluláris bevitele hatástalan. Továbbá kiderítették, hogy a lokális ACh injekció hatása sok szempontból eltér az elektromos inger hatásától (FATT és KATZ 1961, TAKEUCHI és TAKEUCHI 1960).

2. TAUC és GERSCHENFELD (1962) kimutatták, hogy tengeri Gastropoda abdominális ganglionjában ACh extracelluláris mikroapplikációjával kétféle típusú sejt különíthető el: D-sejtek, amelyekben az ACh depolarizációt és sorozatkisülést okoz és H-sejtek, amelyekben az ACh hiperpolarizációt és a sorozatkisülés leállását okozza (4. és 5. ábra).

3. KRNJEVIC és munkatársai (1961—63) macska, nyúl és rhesus-majom nagyagykéreg sejtjeinek reakcióit vizsgálták extracellulárisan mikroinjiciált ACh-ra, 5-HT-ra, adrenalinra, GABA-ra, L-glutamátra és egyéb aminosavakra. Vizsgálták a különböző érzékenységű sejtek horizontális és vertikális eloszlását a kéregben, valamint a reakció farmakológiai blokkolhatóságát (iv.

alkalmazott farmakonokkal). Az ACh érzékeny sejtek a vizsgált sejtek kb. 15%-át teszik ki és csoportokban fordulnak elő.

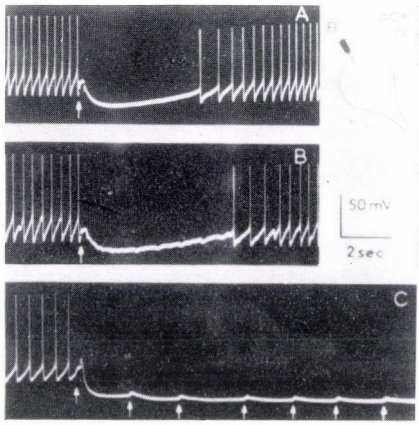
4. KRNJEVIC és munkatársai (1963) a módszer hibaforrásait és korlátait taglalják. Megbecsülik a spontán és elektroforetikusan kiszabaduló anyag mennyiségét (ACh-val töltött pipetták esetében) és elemzik az ionoforézis ideje alatt fellépő és az injiciált anyag minőségétől független elektromos effektus természetét.



4. ábra. Acetilkolin elektroforetikus injekciója tengeri puhatestű *(Aplysia)* hasi ganglion-sejtjének közelébe. Egyidejű intracellularis elvezetés. Az ACh jelen esetben izgató hatású (L. TAUC és H. M. GERSCHENFELD, 1962)

5. TAKEUCHI és TAKEUCHI (1963) *Cambarus* rákféleség lábizmán 1 M-os L-glutamáttal töltött mikropipettával élesen lokalizált-glutamát-érzékeny régiókat találtak, amely területek depolarizációval reagálnak a glutamát ionokra. A receptorok extracellulárisan helyezkednek el.

6. ECCLES és munkatársai (1953—64) a gátló szinaptikus jelenségek ion-mechanizmusának a vizsgálatára macska motoneuronok esetében alkalmaztak intracelluláris kationo- és aniono-forézist. A hiperpolarizáció, mely gátlás alatt észlelhető (IPSP), intracellularis Cl^- injekcióra depolarizációba fordul át. Sikerült egyéb anionok és kationok alkalmazásával a megfordulási effektus és az injiciált ion hidratált ionátmérője között korrelációt találni (ITO, KOSZ-



5. ábra. Acetilkolin elektroforetikus mikroinjekciója tengeri puhatestű hasi ganglionsejtje közelébe. A válasz intracelluláris elvezetése egyidejűleg történik. A reakció jelen esetben gátlás (L. TAUC és H. M. GERSCHENFELD, 1962)

TYUK, OSHIMA 1963). Az ionmechanizmus finomabb elemzésére kettős (különböző ionkombinációkkal töltött) és ötös elektródákat is alkalmaznak (ECCLES 1964).

7. Ionaktivitás intracelluláris mérése

A kationok koncentrációjának intracelluláris meghatározására az analitikai kémiai eljárások sora ismeretes (lángfotometria, neutronaktivációs analízis). A meghatározás értéke azon múlik, hogy valamely szövetben a vízterek arányát mennyire pontosan becsüljük meg. Azonban kielégítő pontosságú ilyen eljárás sem ad információt az aktív ionizált kationféleségek koncentrációjának gyors változásairól, aminek a bioelektrogenezisben elsőrendű fontossága van. Ezért lényeges új módszerek kialakítása, illetve azok mikrokivitelének megvalósítása.

Akár a H^+, akár a Na^+ vagy K^+ ionaktivitás elektrokémiai mérése esetén két elektróda potenciálja közti különbséget mérik elektronikus elektrométerrel. Az egyik, a mérőelektróda potenciálja, a vizsgálni kívánt és lehetőleg csakis a vizsgálni kívánt kation koncentrációjának a függvényében — lineárisan — kell hogy változzék, a referáló elektróda állandó ismert és reprodukálható potenciállal kell hogy rendelkezzék (PREISICH 1960).

A mérőelektróda anyaga speciális, ún. 3 komponensű kationit üveg: H^+ esetében pl. ES—1, K^+ esetében $NAS_{27,\ 2-4,8}$ vagy NAS_{27-8} (EISENMAN), Na^+ esetében NAS_{11-18} vagy NAS_{20-10}. A betűk a Na, Al, Si komponenseket, a számok a keverési arányokat jelölik (Si-ra az esik, ami 100%-ból marad). A speciális üvegféleségből a szokásos módon mikroelektródákat húznak,

melyeknek a vége természetesen nem nyitott. Csúcsátmérő kb. 1 μ. A kapilláris végét esetleg utólag kell elzárni. A mérőelektróda legfeljebb 10 μ-os szakaszát szabadon hagyják és a többi részt neutrális üveggel vonják be (pl. Pyrex). A belső elektródát és a szigetelést különféle kötőanyagokkal erősítik össze.

Az elektróda töltete függ a mérendő ion minőségétől. Az intracelluláris pH elektródákat 2 n HCl-lel, a K^+ elektródokat 1 n KCl-dal, a Na^+ elektródokat 1 n NaCl-lel kell tölteni.

A mérőműszer 10^{10}—10^{11} Ω bemenő ellenállású elektronikus elektrométer.

A H^+ mikroelektródák elmélete nem tér el az egyéb pH elektródák elméletétől. A Na^+ elektróda potenciálja

$$E = E_0 + \frac{RT}{F} \ln (a_{Na} + k_{NaK} a_K)$$

a K^+ elektróda potenciálja

$$E = E_0 + \frac{RT}{F} \ln (a_{Na} + k_{NaK} a_K)$$

Az elektródák szelektivitása, az ionaktivitás mérésének specifikus volta az üveg minőségétől függ. A K^+ és Na^+ elektródák H^+ ionokra alig érzékenyek, a Na^+ elektróda sajnos K^+-ot is mér, ami K^+ és Na^+ elektródák egyidejű alkalmazását teszi szükségessé. A szelektivitást a k_{NaK} állandó jelzi, amelyet a kísérlet előtt meg kell határozni.

Jelenleg az eredetileg folytonos pH, pK és pNa mérésre készült elektródákat Eisemann, Rudin és Casby (1957), mikrokivitelben Hinke (1959), Kosztyuk és Szorokina (1961) és A. A. Lev (személyes közlés) használja különböző célokra. Ezekkel a speciális elektródokkal történő mérések jelentős adatokkal egészíthetik ki az ingerlékeny sejtek működésével kapcsolatos ismereteinket.

A rövidség kedvéért és részben a fontosság miatt részletesebben csak az üvegkapilláris mikroelektródákkal végzett műveletekről esett szó. Azonban az izolált velőhüvelyes axonok elektrofiziológiája is jelentős helyet foglal el napjaink neuron-fiziológiai kutatásaiban. Nemkülönben jelentős eredmények várhatók az intraaxonális perfúziós módszertől (Hodgkin és munkatársai, 1961). Hasonló okok miatt nem térhettünk ki az extracelluláris mikroelektróda technika problémáira és eredményeire, melyeknek jelentősége manapság az idegrendszer kibernetikai funkcióinak vizsgálatában mutatkozik nagynak.

A cél az volt, hogy érzékeltessük a citológia elektrofiziológiai módszereinek jelentőségét, korlátait, nehézségeit és perspektíváit. Az elmondottakból látható, hogy az elektrofiziológiai módszerek az izom- és idegsejtek elemi működésének megismerésében döntő jelentőségűek. De az is látható, hogy ezek a módszerek sajátos igényeket kielégítő technikai felkészültséget kíván-

nak. A kutatóhelyek jó műszaki felkészültsége és korszerű műszerezettsége nélkül éppen ezért ma már nem képzelhető el eredményes kutatómunka az izom- és idegsejtek működésének vizsgálata terén.

IRODALOM

1. Adrian, R. H.: J. Physiol. **133,** 631 (1956).
2. Bak, A. F.: EEG. clin. Neurol. **10,** 745 (1958).
3. Baker, P. F., A. L. Hodgkin, T. I. Shaw: Nature **190,** 885 (1961).
4. Bartlett, J. H.: Tr. Am. Electrochem. Soc. **87,** 521 (1945).
5. Boyle, P. J., E. J. Conway: J. Physiol. **100,** 1 (1941).
6. Bures, J., M. Petrán, J. Zachar: Electrophysiological Methods in Biological Research. Publishing House of the Cz. A. of Sci. (1962).
7. Del Castillo, J., B. Katz: J. Physiol. **128,** 157 (1955).
8. Cole, K. S.: Arch. Sci. physiol. **3,** 253 (1949).
9. Cole, K. S.: Biophysical. Soc., Cambridge **22** (1958).
10. Cole, K. S., J. V. Moore: J. Gen. Physiol. **44,** 123 (1960).
11. Curtis, H. J., K. S. Coole: J. Gen. Physiol. **21,** 757 (1938).
12. Curtis, H. J., K. S. Coole: J. cell. comp. Physiol. **15,** 147 (1940).
13. Dean, R. B.: Biol. Symp. **3,** 331 (1941).
14. Donaldsson, P. E. K.: Electronic Apparatus for Biological Research. Butterworths Scientific Publications. London (1958).
15. Eccles, J. C.: The Physiology of Synapses. Springer Verlag. Berlin (1964).
16. Eisemann, G., D. O. Rudin, J. U. Casby: Science **126,** 831 (1957).
17. Falk, G., R. W. Gerard: J. Cell. Comp. Physiol. **43,** 393 (1954).
18. Frankenhauser, B.: J. Physiol. **169,** 424 (1963).
19. Fatt, P., B. Katz: J. Physiol. **115,** 320 (1951).
20. Graham, J., R. Gerard: J. Cell. Comp. Physiol. **28,** 99 (1946).
21. Grundfest, H.: Electrochemistry in Biology and Medicine. Ed. Sheldlovsky. Wiley (1955).
22. Grundfest, H., C. Kao, M. Altamirano: J. Gen. Physiol. **38,** 245 (1954).
23. Hagiwara, S., N. Saito: J. Physiol. **148,** 161 (1959).
24. Haapanen, L., D. Ottoson: Acta physiol. scand. **32,** 271 (1945).
25. Hinke, J. A. M.: Nature **184,** 1257 (1959).
26. Hodgkin, A. L., A. F. Huxley: Nature **144,** 710 (1939).
27. Hodgkin, A. L., A. F. Huxley, B. Katz: J. Physiol. **116,** 424 (1952).
28. Hodgkin, A. L., B. Katz: J. Physiol. **109,** 240 (1949).
29. Hodgkin, A. L., R. D. Keynes: J. Physiol. **119,** 513 (1953).
30. Hodgkin, A. L., R. D. Keynes: J. Physiol. **128,** 28 (1955).
31. Hodgkin, A. L., W. A. H. Rushton: Proc. Roy. Soc. B. **133,** 444 (1946).
32. Hőber, R.: Pflüg. Arch. ges. Physiol. **133,** 237 (1910).
33. Ito, M., P. G. Kosztyuk, T. Oshima: J. Physiol. **164,** 150 (1963).
34. — Kosztyuk, P. G.: — Костюк, П. Г.: Микроэлектродная техника. Изд. АН УССР, Киев (1960).
35. Krnjevic, K., J. F. Mitchell, J. C. Szerb: J. Physiol. **165,** 421 (1963).
36. Krnjevic, K., J. W. Phillis: J. Physiol. **165,** 274 (1963).
37. Kosztyuk, P. G., Z. A. Sorokina: Symp. on Membrane Transport and Metabolism. Publ. House of Cz. A. Sci. Prague (1961).
38. Kato, G.: Cold Spring Harbor Symp. Vol. IV. 202 (1936).
39. Ling, G., R. W. Gerard: J. cell. comp. Physiol. **34,** 383 (1949).
40. Ling, G. N.: J. Gen. Physiol. **43,** 149 (1959).
41. Majszkij, V. A.: — Майский, В. А.: Автореферат Дисс. канд. биол. наук, Киев. (1963).
42. Marmont, G.: J. cell. comp. Physiol. **34,** 351 (1949).
43. Naszonov, D. N.: — Насонов, Д. Н.: Местная реакция протоплазмы и распространяющееся возбуждение. Изд. АН СССР, М. Л. (1959).
44. Nastuk: J. Cell. Comp. Physiol. **42,** 249 (1953).
45. Oomura, Y., T. Tomita: Electrical Activity of Single Cells. Ed. Y. Katsuki. Igaku, Tokyo (1960).
46. Preisich, J.: Bevezetés az elektrokémiába. Műszaki Kiadó, Budapest (1960).

47. Rushton, W. A. H.: J. Physiol. **82,** 332 (1934).
48. Takeuchi, A., N. Takeuchi: Nature **198,** 490 (1963).
49. Takeuchi, N., A. Takeuchi: J. Physiol. **154,** 52 (1960).
50. Tauc, L., K. Frank: J. de Physiol. (Paris) **54,** 415 (1962).
51. Tauc, L., H. M. Gerschenfeld: J. Neurophysiol. **25,** 236 (1962).
52. Tobias, J. M.: J. Cell. Comp. Physiol. **36,** 1 (1950).
53. Trosin, A. Sz.: — Трошин, А. С.: Проблема клеточной проницаемости. Изд. А.Н. СССР. М.—Л. (1956).

„MUTÁNSOK FELHASZNÁLÁSA A NÖVÉNYNEMESÍTÉSBEN" C. KONFERENCIÁRÓL

BÁLINT ANDOR

Agrártudományi Egyetem Növénynemesítési Tanszék, Gödöllő

Rómában 1964. május 25. és június 1. között a FAO (Egyesült Nemzetek Mezőgazdasági Szervezete és az IAEA (Nemzetközi Atomenergia Ügynökség) rendezésében ún. „technical meeting" zajlott le a megjelölt tárgykörben.

Ehhez csatlakozott egy egynapos „panel" „Alacsony sugárdózisok hatása a növények növekedésére és termőképességére" címmel.

A két konferencián 32 ország 169 delegátusa vett részt. A résztvevők összesen 72 előadást hallgattak meg. Sok előadást élénk vita követett.

Az alábbiakban az előadások kronologikus ismertetése helyett, kiemelve egyes, általam jelentősebbnek tartott témaköröket, adok áttekintést a konferenciáról.

Elméleti kutatások

A konferenciát bevezető elméleti összefoglaló előadás (HESLOT H.) a molekuláris genetikai kutatások eredményei alapján ismertette a mutánsok kialakulási folyamatát. Ennek lényege: a nukleinsavakban az egyes aminosavak szintézisét irányító tripletekben bekövetkező változás felelős a mutánsok létrejöttéért. Ezt a felfogást több mikroszervezeteken végzett vizsgálat támasztja alá.

Magasabb rendű növények (SPARROW A. H. és mtsai) sugárérzékenységét szintén molekuláris genetikai alapon magyarázzák. Ennek az új álláspontnak lényege a következő: a sugárérzékenység a sejtmag, illetve a sejtmag interfázisban levő kromoszómáinak DNS tartalmától függ. Azonos fokú letalitás (kipusztulási %) eléréséhez a különböző növényfajok kromoszómái nagyjából azonos mennyiségű sugárzási energiát nyelnek el. Az egyéves növényekben $2{,}3 \pm 37 \times 10^6$ eV, a növekedés gyenge akadályozásához $1{,}1 \pm 0{,}21 \times 10^6$ eV szükséges. Érdekes, hogy fás növényeknél a szükséges dózisérték kb. 60%-kal kevesebb. Ezt az álláspontot más vizsgálatok (OSBORNE T. S.) is igazolták (tenyésző-csúcsmerisztéma vizsgálata alapján), kivéve, ha túl nagy vagy túl kicsiny sejtmagvú fajokról volt szó.

A poliploid fajokban, amelyeknek a kromoszómái nagyobb számúak és térfogatúak, nem talált lényegesen nagyobb energiaelnyelést. Ezt azzal

magyarázzák, hogy interfázisban a poliploidok kromoszómái erősen redukáltak.

SWAMINATHAN M. S. véleménye szerint a poliploidok reagálása sugárérzékenység tekintetében nem egységes. Kevéssé érzékenyek a besugárzásra, mivel egy tulajdonság génjei több homológ lókuszban helyezkednek el, és ezek nem mutálnak egyszerre és egységesen. SPARROW A. H. elképzeléseinek általánosíthatósága ellen szól az, hogy egy fajon belül is az egyes fajták kromoszóma hosszúsága eltér, a DNS- és kromoszómatérfogat is különböző (ez utóbbi nem mond ellent SPAWROW hipotézisének. B. A.), és ez nem várt reagálást okoz.

A sugárérzékenység DNS-tartalomtól való függése mellett változatlanul kiemelik a besugárzás körülményeinek (oxigén-, nitrogéntartalmú közeg, hőmérséklet stb.) hatását.

Ezt a sort SANTOS I. S. *Phaeseolus mungón* a besugárzás előtt és után alkalmazott hőkezelése (80° C és fél órán át) egészítette ki, ami különösen nagyobb dózisok alkalmazása esetén jelentősen növelte a túlélő növények arányát.

GUSTAFSSON A. a sugárérzékenység kialakulásában konkrétebb kísérletek nélkül a plazmatikus tényezők szerepére hívja fel a figyelmet.

Mindezek a vizsgálatok gyakorlati vonatkozásban a mutációs változások gyakoriságának növelését segítik elő, és bizonyos fokú magyarázatot adnak a tapasztalati úton kapott eredményekre.

A különböző mutagének hatékonysága

Elméleti és gyakorlati szempontból egyaránt vitatott probléma a különböző mutagének hatékonyságának összehasonlító értékelése.

A legtöbb beszámolóban az X, gamma, neutron sugárzás, a P^{32} és S^{32} izotópok, továbbá több kémiai mutagén, etilmetánszulfonát (EMS), etilénimin (EI), mustárnitrogén, HNO_2 stb. összehasonlító alkalmazása szerepelt. Az összehasonlítási alapok a beszámolókban eléggé egységesek, bár gyakorlati szempontból vitathatók.

Az összehasonlítás jórészt a klorofilldefektusok számának és típusainak, a sterilitás arányának megállapítása alapján történik. Ebben a vonatkozásban a gyakorlati alkalmazás szempontjából kényelmetlen P^{32} és S^{35}-s kezelések után (ami belsőleg hat) az EMS áll első helyen.

Ha azonban az összehasonlítás alapjául a fertilis klorofillváltozatokat és az egyéb fertilis egyedek tulajdonságaiban bekövetkezett változásokat vizsgáljuk (pl. WELLENSIEK S. I., borsón), akkor első helyen a *neutron*, utána a gamma és X-sugárzás, és csak ezután jön az EMS, vagy más kémiai mutagén. A kedvező változások hatásfoka alapján tehát a kémiai mutagének nem csökkentik a sugárzások szerepét. Hasonló a helyzet a változások spektruma tekintetében is. A sugárzások a klorofilldefektusok tekintetében nagyobb

variabilitást alakítanak ki, mint a kémiai mutagének, ezek viszont egyes speciális megváltozások előidézésére alkalmasabbak.

A konferencián sokan, különösen a *neutron besugárzások* nagy hatékonyságát hangsúlyozták. Más előadók a sugárzásokkal kapott kedvezőbb eredményeik ellenére is azt hangoztatták, hogy a különböző célkitűzések sugárzásokkal, vegyszerekkel vagy ezek kombinációjával is megvalósíthatók. Legnagyobb biztonságot a különböző mutagének párhuzamos alkalmazása nyújt, tekintve, hogy a specifikus hatásokra még kevés adat áll rendelkezésre. Gazdaságilag hasznos mutánsokat már besugárzáson kívül vegyszerekkel is előállítottak.

A mutagének hatása a kvantitatív jellegek variabilitásának növekedésére

Elméleti és gyakorlati szempontból egyaránt a mutagének hatásának értékelésénél a kvantitatív (mennyiségi) jellegek (a gazdasági növények legfontosabb tulajdonságainak döntő része ebbe a csoportba tartozik) változékonyságának növekedése a leglényegesebb.

A kezelt nemzedékben (M_1) a kvantitatív jellegek átlagértéke rendszerint csik, de a második nemzedékben (M_2) már az átlagértékek kiegyenlítődése mellett a változékonyság jelentős növekedésével találkozunk. Ez a növekedés földimogyoróban a kontrollnál négyszeresen, a szója fehérje- és olajtartalmánál hatszorosan nagyobb volt a kontroll értékszámánál. A koraiság, szárszilárdság és egyéb tulajdonságok változékonyságának növekedése is a várakozás 30—80%-ig bekövetkezett.

A késői érésű földközi-tengeri vörösherét besugározva M_2-ben a variabilitás hatszoros növekedése következett be. Több korai és a kontrollnál későbbi alak is létrejött. Az M_2 nemzedéket újból besugározva (korai és késői típusokat) a variabilitás az M_2 100%-nak véve csak 20%-kal növekedett.

Elméleti és gyakorlati vonatkozásban egyaránt jelentős kérdés, hogy a variabilitás mutagének vagy keresztezés révén növelhető nagyobb mértékben. A kérdéssel kísérleti adatok alapján több beszámoló foglalkozott. Földimogyoróval, árpával végzett vizsgálatok alapján azt állapították meg, hogy a variabilitás keresztezéssel ugyanolyan mértékben növelhető, mint mutagének felhasználásával. Zabbal végzett kísérletekben a keresztezés csak 50%-kal növelte a változékonyságot a mutagénekkel szemben.

A variabilitás növekedése lehetőséget nyújt különböző, gazdasági szempontból értékes típusok kiválasztására. A kapott változatok 60—70%-os biztonsággal (h^2-érték) öröklődnek, ily módon széles lehetőséget biztosítanak hasznos változatok létrehozására. Önmagában a mutagének és a keresztezés változékonyság növelő hatásának összehasonlítása csak elméletileg érdekes,

hiszen sokszor olyan esetekben használjuk fel a mutagéneket a változékonyság növelésére, amikor a fajtagyűjteményekben a kialakítani kívánt tulajdonsággal rendelkező formák nem állnak rendelkezésre.

Vegetatív úton szaporított növényekkel, erdei fákkal, dísznövényekkel végzett kísérletek

A vegetatív úton szaporított növényekben a kapott változások megőrzése könnyen biztosítható, ezért újabban nagyobb arányban kísérleteznek ebben az irányban is. A kísérletek fő objektumai a burgonya, gyümölcs- és erdei fák, virágok.

A legváltozatosabb és legmutatósabb eredmények a virágos növényeknél (*Cana indica*, krizantén, fokföldi ibolya, szekfű) jelentkeznek. Több megváltozást kaptak burgonyán is. Almán és körtén, gyümölcshéj- és hússzín megváltoztatása sikerült. Szőlővesszőket besugározva 800—1200 éves fajtákból jelentős számú új változatot emeltek ki.

Rudolf T. D. a lucfenyőn (white spruce) 400, 600, 800 r-rel pollenkezelést végzett. A kezelt pollennel termékenyített magvak (a 600 és 800 r-es kezelések) megkötési és csírázási %-a felülmúlta a kontrollt. Arra számítanak, hogy az így előállított magvakból heterózis hatást mutató növények fejlődnek.

A beszámolókból az állapítható meg, hogy eddig ezeken a területeken viszonylag kevesebb munka folyt, így a megfelelő módszerek kialakítása még sok munkát kíván.

Gyakorlati alkalmazások

A gyakorlati feladatok megoldására alkalmazott dózisoknál abból a tételből indulnak ki, hogy a defektív és életképes mutánsok között határozott arány van, tehát hasznos változások csak nagyobb dózisok alkalmazásától várhatók. Saját kísérleteinkben kukoricán a gazdasági szempontból hasznos változások előidézésére mérsékeltebb dózisok alkalmazását láttuk alkalmasabbnak. Hasonló megállapításra jutottak különböző szerzők búzán, gyapoton és napraforgón végzett vizsgálatok alapján.

A mutánsok közvetlen felhasználása mellett több beszámoló utalt a mutánsoknak keresztezési partnerként való hasznosítására (árpán, földimogyorón, gyapoton stb.).

Az elmúlt évi XI. Genetikai Kongresszus összefoglaló beszámolója 8 olyan mutáns fajtáról emlékezett meg, amelyeket nagyobb területen termelnek. A konferencia beszámolói alapján ez a szám nagyobb számú fajtával, illetve fajtajelölttel egészítendő ki.

A legnagyobb az előretörés a virágok kezelésénél. A beszámolók szerint ma már egyes cégek nemesítő telepein folyamatosan állítanak elő besugárzással újabb és újabb fajtákat. Ezek gyors felszaporítása nem jelent nehézséget.

Fajta, illetve fajtajelöltség szintjét eltérő mutánsokról a következő növényeknél számoltak be: szőlő (BREIDER H.), korai zöldborsó (WELLENSIEK I.), földimogyoró (EMERY D. A.), szárszilárd kenyérbúza (SCARASCIA M., BOZZINI A.), árpa (GAUL H.), szója (ADAMS és HAWKEY), lisztharmattal szemben ellenálló árpa (FAVRET E. A. Argentinában), rövidszalmájú korai rizs (KAWAE et al.), hosszabb szálhosszúságú, bővebben termő gyapot (AL DIDI), afrikai kölesben a szálkásság növekedett, ami a madárkár ellen megvédi a növényt (BILQUEZ F.), sárgás hússzínű korai körte előállítása (HOUGH F. P.), burgonya (FERWERDA F. P.), korai szalmaszilárd rizs és árpa (TENG-YING OUANG).

Ez a sor a következő években az alapanyagelőállítás és a szelekciós módszerek fejlődése révén növekedni fog. Ma már a nemesítők nem várják azt, hogy néhány mag vagy növény besugárzásával „az alkalmazott nukleáris energia mint mágus" elvégzi a nemesítő részletekbe menő elemző munkáját.

Kis dózisok stimulációs hatásának vizsgálata

A konferencia végén egy külön egynapos ülésszak foglalkozott a radiostimuláció problémáival. A nagyrészt 1—400 r dózisokkal árpával, zabbal, cukorrépával, burgonyával végzett kísérletek alapján NSZK-ban (A. Süss) értek el értékes eredményeket. Különösen érdekes, hogy egy árpán végzett kezelés utóhatása 3 éven keresztül a terméstöbbletben jelentkezett.

Részletesen foglalkoztak az egyes agrotechnikai tényezők, továbbá az intenzív és extenzív feltételeknek a hatásával. Ezek a vizsgálatok az alkalmazás biztonságát lényegesen növelik és elősegítik a gyakorlati felhasználás egyes kérdéseinek megoldását is.

SPARROW A. (USA) a sugárzások növekedésserkentő pozitív hatásán túl, besugárzott magvak utódaiból fejlődő növényeken kb. 90%-ban negatív eredményeket ismertetett.

TAVCAR A. (Jugoszlávia) búzán, kukoricán és egyéb növényeken elért pozitív eredményekről számolt be.

Több beszámoló elméleti vonatkozásban ismertette a jelenség magyarázatára vonatkozó elképzeléseket. Ezek részben az energetika szint, részben a nukleinsavakban végzett vizsgálatokra vonatkoztak.

Az általános vélemény az volt, hogy a szélesebb körű gyakorlati alkalmazások előkészítése érdekében további komplex vizsgálatok szükségesek.

A konferencia összefoglaló értékelése

A címmel ellentétben, a konferencia nagyobbrészt elméleti kérdésekről szóló beszámolókat hallgatott meg. Az elméleti munka fokozása elősegíti a gyakorlati alkalmazások kiterjesztését, így ezek nem haszontalanul foglalták

le az idő nagyobb részét. Viszont van néhány elméleti kérdés, amellyel keveset foglalkoznak: ilyen a mutagének specifikus hatásának vizsgálata; az idegentermékenyülő növényeken nagyon kevés vizsgálatot végeznek és nem foglalkoznak a felnevelési feltételek komplex hatásával (az egyes elemeket: hőmérséklet, oxigéntartalom stb.) vizsgálják.

Nagyon kritikusan foglalkoztak a mutagének és egyéb módszerek hatékonyságának összevetésével és nagyon sokszor felmerültek a gazdaságossági kérdések is.

A konferencián szerzett tapasztalatok segítséget nyújtanak ahhoz, hogy a kutatómunkában módszertanilag a legfejlettebb eljárásokat alkalmazzuk (ehhez a technikai felkészültség megvan) és reálisan határozzuk meg a megoldandó feladatokat.

A kiadásért felel az Akadémiai Kiadó igazgatója Műszaki szerkesztő: Farkas Sándor

A kézirat nyomdába érkezett: 1964. XI. 21. — Terjedelem: 10,75 (A/5) ív, 68 ábra

64.60456 Akadémiai Nyomda, Budapest — Felelős vezető: Bernát György

24,— Ft

TARTALOM

A citológia időszerű kérdései, II. rész

FRIDVALSZKY LORÁND: A növényi sejtfal ultrastruktúrája és növekedése 1

RÖHLICH PÁL: Állati fotoreceptorok ultrastruktúrája 33

HÁMORI JÓZSEF: Idegsejtek organellumai és idegvégződések 63

SALÁNKI JÁNOS—LÁBOS ELEMÉR: Izom- és idegsejtek elektrofiziológiai vizsgálómódszerei 89

Útibeszámoló

BÁLINT ANDOR: Mutánsok felhasználása a növénynemesítésben című konferenciáról 119

Index: 26.496

A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA

BIOLÓGIAI TUDOMÁNYOK OSZTÁLYÁNAK

KÖZLEMÉNYEI

SZERKESZTI
STRAUB F. BRUNÓ

VIII. KÖTET 2. SZÁM

AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST
1965

BIOL. OSZT. KÖZL.

A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA
BIOLÓGIAI TUDOMÁNYOK OSZTÁLYÁNAK
KÖZLEMÉNYEI

A SZERKESZTŐ BIZOTTSÁG TAGJAI

Dr. DUDICH ENDRE, Dr. GYÖRFFY BARNA, Dr. SOÓ REZSŐ,
Dr. SZENTÁGOTHAI JÁNOS, Dr. TÖRŐ IMRE, Dr. ZÓLYOMI BÁLINT

SZERKESZTI

STRAUB F. BRUNÓ

TECHNIKAI SZERKESZTŐ

DÉZSI LÁSZLÓ

SZERKESZTŐSÉG: MTA BIOLÓGIAI OSZTÁLYA BUDAPEST V., NÁDOR U. 7.

KIADÓHIVATAL: BUDAPEST V., ALKOTMÁNY UTCA 21.

A Magyar Tudományos Akadémia Biológiai Osztályának Közleményei változó terjedelmű füzetekben jelennek meg. Négy füzet alkot egy kötetet. Évenként általában egy kötet jelenik meg.

Az MTA Biológiai Osztályának Közleményei részére kéziratok a következő címre küldendők:

Budapest V., Nádor u. 7., Dézsi László technikai szerkesztő.

Minden szerzőt 100 különlenyomat és nyomtatott ívenként 400 forint tiszteletdíj illet meg megjelent munkájáért. Közlésre el nem fogadott kéziratokat a szerkesztőség lehetőleg visszajuttat a szerzőhöz, de felelősséget a beküldött kéziratok megőrzéséért vagy továbbításáért nem vállal.

A Közlemények előfizetési ára kötetenként belföldi címre 40 forint, külföldi címre 60 forint. Megrendelhető belföldre az Akadémiai Kiadónál (Budapest V., Alkotmány u. 21. Bankszámla: 05-915-111-46 sz.) külföldre a „KULTÚRA" Könyv- és Hírlap-Külkereskedelmi Vállalatnál (Budapest I., Fő utca 32. Bankszámla: 43-790-057-181 sz.) vagy annak külföldi képviseleteinél és bizományosainál.

A Magyar Tudományos Akadémia Biológiai Osztálya, valamint az V. Orvosi Tudományok Osztálya a következő idegen nyelvű folyóiratokat adja ki:

1. *Acta Biologica*,
2. *Acta Chirurgica*,
3. *Acta Medica*,
4. *Acta Microbiologica*,
5. *Acta Morphologica*,
6. *Acta Paediatrica*,
7. *Acta Physiologica*,
8. *Acta Botanica*,
9. *Acta Zoologica*

E lapok hivatottak a magyar biológiai és orvosi tudományok eredményeinek legjavával a külföldet megismertetni.

A cikkek német, angol, francia vagy orosz nyelven jelennek meg a szerző kívánsága szerint, összefoglaló pedig további két nyelven. A dolgozatot magyar vagy a megfelelő idegen nyelven a következő címre kell beküldeni:

Acta Biologica szerkesztősége, Budapest IX., Tűzoltó u. 58. (Techn. szerk. Dr. Müller Miklós)

Acta Chirurgica szerkesztősége, Dr. Rényi-Vámos Ferenc szerkesztő, Budapest VIII., Üllői út 87/b.

Acta Medica szerkesztősége, Budapest VIII., Korányi Sándor u. 2. (Dr. Stark Ervin)

Acta Microbiologica szerkesztősége, Országos Közegészségügyi Intézet, Budapest IX., Gyáli út 4. (Techn. szerk. Dr. Dömök István)

Acta Morphologica szerkesztősége, Dr. Törő Imre, Szövet- és Fejlődéstani Intézet, Budapest IX., Tűzoltó u. 58.

Acta Paediatrica szerkesztősége, Dr. Véghelyi Péter szerkesztő, Budapest VIII., Bókay János u. 53.

Acta Physiologica szerkesztősége, Dr. Straub F. Brunó, Orvos-vegytani Intézet, Budapest VIII., Puskin u. 9.

Acta Botanica szerkesztősége, Természettudományi Múzeum, Növénytár, Vajdahunyadvára. (Techn. szerk. Allodiatoris Irma)

Acta Zoologica szerkesztősége, Dr. Dudich Endre, Állatrendszertani Intézet, Budapest VIII., Puskin u. 3.

MTA BIOLÓGIAI TUDOMÁNYOK OSZTÁLYA VEZETŐSÉGÉNEK BESZÁMOLÓJA

STRAUB F. BRUNÓ

Az elmúlt év kutatási eredményeiről az egyes intézeteknek és támogatott tanszékeknek nyújtott támogatás megoszlásáról az Osztály könyvkiadási és más tudományszervezési tevékenységéről a közreadott melléklet részletes adatokat nyújt.

Ha az elmúlt év főbb eseményeiről összefoglalóan kívánunk beszámolni, úgy a következő mozzanatokat érdemes kiemelni.

A szegedi kutatóintézetek tervezése egyre fokozódó lendülettel folyik. A beruházási program rövidesen elkészül és annak jóváhagyása után a kiviteli tervek elkészülnek. A szegedi Tervező Iroda által készített beruházási program már egészen konkrétan jelöli meg a tervezett intézetek elhelyezését, azokon belül az egyes osztályok és laboratóriumok, üvegházak, állatistállók és közös létesítmények elhelyezését, méreteit, berendezését és funkcionális kapcsolatait. Szükségszerűen a tervezés munkájába egyre több biológus szakember kapcsolódik be, ezek nagyrésze olyan, aki valószínűleg ezekben az intézetekben fog dolgozni. Ha összehasonlítjuk a biológus közhangulat változását, megállapíthatjuk, hogy a szegedi elhelyezés iránti kételyek nagymértékben eloszlottak az utolsó év alatt és mindenki nagy várakozással tekint a tervezés és az építkezés munkája elé. Valóban meg kell állapítani, hogy egyre sürgetőbb lesz a szegedi építkezés megindítása, mert számos kutatócsoportunkban, sőt intézeteinkben is a korszerű munka feltételei a zsúfoltság miatt, már aligha lesznek meg, egyes fontos kutatások — mint pl. a nukleinsavak tanulmányozása — pedig egyelőre sehol sem talál helyet.

A szegedi intézetek létesítésével kapcsolatos az a nagy jelentőségű tény is, hogy az 1966-ra műszerek vásárlására rendelkezésre álló összeg ugrásszerűen emelkedett. Több mint két és félszer akkora, mint az eddigi elmúlt hét év átlaga. Az Osztályvezetőség úgy határozott, hogy mindazok a nagyobb műszerek — és elsősorban ilyeneket kívánunk beszerezni —, amelyeket ebből a keretből vásárolunk, már a szegedi kutatóintézetek műszerállományát alapozzák meg.

Ilyenek: Unicam regisztráló spektrofotométer,
Packard folyadék szcintillációs mérő készülék,

gázkromatografáló berendezés,
nagy felbontású TESLA elektronmikroszkóp
és a funkcionális struktúrakutatás elősegítésére
vakuumgőzölők, ultramikrotomok, kryostátok.

Természetesen ideiglenesen ezeket a műszereket a már meglevő kutatóhelyek rendelkezésére bocsátjuk Budapesten, Tihanyban, ill. Szegeden.

A második tény, amit az év történetéből érdemes kiemelni, a külföldi tanulmányutak számának további növekedése az elmúlt periódushoz képest. A melléklet néhány számadatot tartalmaz, miután azonban a kiutazások a legkülönbözőbb keretekből történnek, ez az adat inkább kisebb, mint a valóság. De közvetlen tapasztalatból tudjuk, hogy intézeteinkben — különösen a Genetikai és Biokémiai Intézetben — nemsokára elérjük azt a szintet, hogy minden vezető és önálló kutató legalább fél évet dolgozott külföldön. A tihanyi Biológiai Intézetben ebben az évben indult meg nagyobb mértékben a tanulmányutak hasznosítása. Megemlíthetem ezzel kapcsolatban, hogy az Osztály tevékenységének eredményeként a nápolyi Zoológiai Intézetben egy évre 10 hónap olasz állami ösztöndíjat biztosítanak egy magyar biológus kutatónak. Ebben bizonyára jelentős része van annak, hogy a tragikus hirtelenséggel elhunyt Konok István kutatónk Nápolyban méltóan képviselte a fiatal magyar biológus nemzedéket.

A külföldi tanulmányutakkal kapcsolatosan érdemes újra leszögezni az Osztályvezetőségnek azt az álláspontját, hogy ezeket tervszerűen és a magyar tudomány egésze érdekeinek figyelembevételével elő kell készítenünk. Ez a módszer az elmúlt két évben bevált. Bizottságaink javaslatai alapján előre tudtuk, hogy milyen területre, milyen fiatal kutatók kiküldetése szükséges és kik a legalkalmasabbak, — így a felmerülő lehetőségeket sokkal jobban tudjuk kihasználni. Szeretném hangsúlyozni, hogy ez korántsem jelenti az ösztöndíjak felülről való osztogatását. Az ösztöndíjakra, külföldi tanulmányutakra pályázók személye ismeretes az Osztály előtt. Elsősorban a múlt év őszén végzett felmérés alapján tudjuk, hogy egyénileg kinek mi a terve és kívánsága. Mindazokat a terveket, amelyeket az Osztály meghatározott tudománypolitikája fontosnak tart, különösen támogatjuk, de örülünk annak, ha ezenkívül más tanulmányutak is megvalósulnak.

A harmadik jelentős mozzanat, amit szeretnék kiemelni az év eseményei közül, — bizottságaink újjáalakítása volt. Az elmúlt év folyamán ezt a munkát másképpen végeztük, mint eddig. Az Osztály teljes ülése a következő alapelveket fogadta el:

a) A szakbizottsági titkári megbízatás egy választási ciklusra vonatkozzék, ezáltal biztosítva annak lehetőségét, hogy a konkrét tudományszervezési munkakört minél több kutató elláthassa.

b) Olyan fiatal szakemberek megbízását, — a jelenlegi létszám fenntartásával — akik az előző három év során bizottsági munkában nem vettek részt. Az új megbízások egy-egy választási ciklusban meglevő létszám 1/3-ára vonatkoznak.

c) Egy szakember csak egy szakbizottságnak legyen tagja. Speciális szakkérdések megvitatásához a bizottságok bárkit meghívhatnak, mellyel a jövőben fokozottabban éljenek.

Elképzelésünk az volt, hogy a bizottsági munka hatékonyságát elősegíti az, ha személyi összetételük időnként változik, és így a különböző szakterületek aktív művelőit folyamatosan és felváltva mind be tudjuk vonni a bizottsági munkába. Az eddigi tapasztalatok azt mutatják, hogy az újonnan megválasztott bizottsági tagok felelősségteljesen kezdték el munkájukat, a bizottsági tárgyalások elevenebbek és kritikusabbak lettek. Ugyanakkor meg kell jegyeznünk, hogy egyes bizottsági tagok kihagyása nem azt jelentette, hogy az illetők munkájával az Osztály nem volt megelégedve. Minden biológus számára, aki a tudományszervezési munkában segítséget akar nyújtani, mindig tudunk és szeretnénk is adni feladatokat.

Az elmúlt év eseményei között beszámolhatok még arról, hogy beléptünk a Nemzetközi Biológiai Unió tagjai közé. Ezzel a szervezettel az Osztályvezetőség fogja tartani a kapcsolatot, a Magyar Nemzeti Bizottság elnöke Balogh János, távollétében most Faludi Béla helyettesíti.

A Nemzetközi Biológiai Program munkájába is be kívánunk kapcsolódni, erről tárgyaltunk egyrészt az Unió prágai közgyűlésén, másrészt a nyáron Párizsban megtartott előkészítő értekezleten. A Programban való részvételünk jelenleg pusztán a szükséges tagsági díj előteremtésén múlik, ez a kérdés jelenleg is nyitott.

Az év eseményeiről megemlékezve megemlíthetjük még azt, hogy a Szovjetunió Tudományos Akadémiájának elnöke Keldis, a biológusok figyelmét felkeltő nyilatkozatban értékelte Liszenko akadémikus nézeteivel kapcsolatos vitákat.

A nyilatkozat és a kommentárok mindenki előtt ismeretesek. Úgy gondolom, hogy amikor közgyűlésünk az elmúlt 20 év történéseire visszatekint, a biológusok közvéleménye elvárja a Biológiai Osztály Vezetőségének állásfoglalását is.

Felesleges lenne elmondanom, hogy az elmúlt 10 év során a Biológiai Csoport és Osztály számos intézkedést tett, ami már a liszenkói koncepcióval ellentétben a korszerű biológia támogatását célozta és támogatott minden olyan kutatást a genetika területén, ami materialista szemlélettel a valóság felderítését célozta.

Mégis 16 éven keresztül a biológiai tudományok hazai fejlődésében is számos nehézséget okozott az a körülmény, hogy ebben a kérdésben nem mindig követtünk megfelelő gyakorlatot és az, hogy hosszú ideig tartott, amíg a

helyes álláspontra eljutottunk, ha ugyan nem fenyeget most az a veszély, hogy az akció—reakció törvény alapján újabb túlzásokat követünk el. Nyilvánvalóan szorosan összefüggött az egész probléma a személyi kultusz politikai torzulásával. De a tény mégis tény marad, hogy ebben a kérdésben a mi álláspontunk is helytelen volt, és az igazság mégis az, hogy egy korszak tudománypolitikai hibáiért a vezető kutatók a felelősek. A megtörténteket meg nem történtekké tenni nem lehet, de meg lehet vizsgálni a hibák okait, hiszen nem nézhetünk nyugodtan a jövő elébe, ha nem tanulunk ezekből. Ehhez hozzátehetjük, hogy a párt politikája a személyi kultusz torzulásaitól megszabadulva lehetővé teszi a megfelelő következtetések levonását és éppen azt várja tőlünk, hogy a jövőben ilyen hibákat ne kövessünk el.

Azt hiszem két momentumban kell keresnünk a hibák okát. Az egyik az, hogy nem ismertük kellően a tényanyagot, a másik az, hogy tudományos életünkben a demokratizmus még nagyon gyenge lábon áll. Ezekkel a hibákkal terhelve, ha némi fenntartásokkal, — de elfogadtuk a hivatalos álláspontot. Nem ismertük eléggé a tényanyagot, hiszen a kutatók többsége pl. nem tud eléggé oroszul olvasni ahhoz, hogy az eredeti cikkek eredeti állításai alapján szerezhettek volna elsőkézből ismereteket.

A génelmélet még megoldatlan kérdéseivel nagyjában tisztában voltunk és vagyunk és ezeket a megoldatlan kérdéseket elégséges alapnak fogtuk fel ahhoz, hogy sok igazságot lássunk LISZENKO nézeteiben.

A másik momentum, ami lényeges volt, tudományos életünk és tudományos szervezésünk demokratizmusának gyengesége. Erről a problémáról azért érdemes beszélni, mert ez a jövő fejlődését is befolyásoló tényező. Mindabban, amit ma tervezünk, mindabban a tudományos tervezési és szervezési munkában, amelyet végzünk, s amiről ehelyütt, az Akadémia közgyűlésein az Osztályvezetőség beszámolójával a nyilvánosság előtt beszámolunk, a megfelelő demokratizmus érvényesülése lehet csak a garanciája annak, hogy az adott lehetőségek között a legjobbat határozzuk el és a legjobbat cselekedjük. LISZENKO példája mutatja, hogy hosszabb időn keresztül az ellenvélemény figyelmen kívül hagyásával senki nem irányíthat megfelelő tudománypolitikát, sőt szükségszerűen a fejlődés gátjává válik, bármennyire szilárd belső meggyőződéssel és személyes érdekre való tekintet nélkül dolgozik is. A mi állásfoglalásunk a LISZENKO, vagy LEPESINSZKAJA által felvetett kérdésekben, ha nem is tevékenyen, de passzíve gátolta a hazai biológiai kutatás fejlődését. A problémákat, a vitákat és a harcokat nem lehet kikerülni, s ez a jövőben is adódni fog, de nyugodtabban állnánk mi és nyugodtabban ülnének Önök itt, ha már összekovácsolódott volna egy olyan egészséges, tudományosan és politikailag tisztán látó kutatóközösség, mely a kérdéseket teljes nyíltsággal megvitatni, a lehetséges alternatívákat tisztán látva a megfelelő álláspontot önmaga számára kialakítani képes.

Ezért erről a kérdésről részletesebben és konkrétabban érdemes beszélni.

A tudományos élet demokratizmusa különös jelentőséget kap a mi időnkben azért, mert a XX. században a tudománynak egy új vonatkozása, társadalmi funkciója előtérbe került. Ezt a tendenciát a marxizmus alkotói már felismerték, a szocialista államok születésüktől kezdve abban a tudatban foglalkoztak a tudományos munka kérdéseivel, hogy a tudomány haladása a társadalom fejlődésének szerves része, a társadalom és tudomány kölcsönhatásban van. Az utóbbi negyed század során a tőkésországok vezetői és a tőkésországok kutatói is megváltoztatták korábbi álláspontjukat. Míg azelőtt a tiszta tudomány mindentől független művelése volt a jelszó, ma egyre világosabban látja mindenki, hogy ilyen nincs, a társadalmi szükségletek kielégítése ösztönzi a tudományokat és ez nemcsak elméletben, hanem gyakorlatban az állam, ill. a társadalom által meghatározott célok és feladatok elérésére adományozott támogatás révén kifejezésre is jut. De a tudomány társadalmi funkciója más vonatkozásban is élesen jelentkezett: míg a XIX. sz. felfogása az volt, hogy a tudomány csak jót hozhat az emberiségnek, a XX. sz. ezt a hitet megingatta s így a tudományos kutató erkölcsi felelősségének kérdése egészen más megvilágításba került. Ezért növekedett meg a tudományos kutatók politikai és tudományszervező aktivitása. Amíg egyfelől az állam igényli a tudományt, másfelől a tudomány embere is igényli, hogy munkája egy vonalba essék az állam célkitűzésével, igényli azt, hogy munkáját helyes megvilágításban tárhassa fel a társadalom előtt. 1861-ben az MTA elnöke, Eötvös József már így nyilatkozott: „. . . lelkesülve a tudomány iránt egyszersmind szemeink előtt tartjuk azt is, hogy a célok, mely után a nemzet fárad, céljai maradnak a tudósnak is, kit tudománya sohasem menthet fel azon kötelességektől, melyekkel hazája iránt tartozik."

Az elmúlt 104 év alatt a tudomány rohamos mennyiségi fejlődése odavezetett, hogy a tudomány és társadalom kapcsolata ma már nem a tudós, mint egyén és a társadalom között jön létre, hanem külön megfelelő intézmények és megfelelő szervezetek keletkeztek, kifejezetten ennek a kapcsolatnak a tökéletesebb ellátására. Ezek a szervezetek és ezek az intézmények a tudomány demokratikus szervezésének elengedhetetlen keretei.

Most, amikor felszabadulásunk 20. évfordulójáról és az MTA megújulásának 15. évfordulójáról emlékezünk meg, érdemes rámutatni arra, hogy a felszabadulás zúzta szét azokat a gátakat, amelyek a XX. sz. közepéig megakadályozták Magyarországon a demokratikus társadalmi fejlődést. Ennek egyenes következménye volt az, hogy az Akadémia 1949-ben úgy lépett a szocialista fejlődés útjára, hogy új szervezetében létrehozta azokat a kereteket, amelyek demokratikus tudományszervezési formát jelentenek.

Nem hiszem, hogy érdemes lenne példákkal bizonygatni azt, hogy ezek a demokratikus keretek számunkra, akik a felszabadulás előtti tudományos életben nőttünk fel, mennyire újak és szokatlanok voltak. Hiszen ahhoz voltunk szokva, hogy a tudományszervezés és tudományirányítás lényegében

diktatórikus úton, egyéni vagy politikai-egyéni érdekekből történt. Minden tapasztalat nélkül ezek után egyszerre a kezünkbe hullottak olyan keretek és lehetőségek, amelyekkel nem tudtunk élni. Ha az Akadémia osztályai, bizottságai, tudományos társaságai már korábban éltek volna szakmai életet, majd az Akadémia újjászervezésével szervesen nőttek volna bele az Akadémiába, könnyebb dolgunk lett volna. De nem ez volt a helyzet, felülről létrejött egy szervezet és nem tudtuk, hogyan kell ezt helyesen mozgatni. Azóta birtokon belül próbáljuk kitanulni ennek a gépezetnek a helyes működtetését. Érthető, hogy amikor sem egy bizottság elnöke, sem a bizottság tagjai nem rendelkeztek kellő gyakorlattal a demokratikus ügyintézésben, a szervezet nem működött megfelelően.

Mielőtt ezt a gondolatmenetet folytatnánk, legyen szabad indokolnom, hogy miért éppen most aktuális ennek a problémának a felvetése. Nem arról van szó, bár lehetne így is beállítani és sok igazság lenne benne, hogy a felszabadulás 20. évfordulóját éppen a demokratikus fejlődési lehetőségek számbavételével ünnepeljük, amelyeket ez a felszabadulás számunkra ajándékozott. Ha szabad azt mondanom, véletlenül éppen nagyon nagy szükségünk van a tudományszervezés demokratizmusának maximális kihasználására nekünk biológusoknak. Jelenleg hazánkban a biológia fejlődésének kritikus időszakában élünk. A történeti fejlődés során nem olyan egyszerű felismerni, hogy egy bizonyos fordulat mikor és hogyan kezdődött és viszont egy adott pillanatban nem könnyű felismerni, hogy ma éppen mit kell tenni a jövő érdekében. Az Októberi Forradalom, az 1917. november 7-i eseményekhez köthető. De a változásnak ez a csomópontja csak azért lehetett ilyen nevezetes dátum, mert egy sereg előkészítő változás és egy sereg különböző folyamat eredménye halmozódott fel, ami ennek a napnak az eseményeit lehetővé tette.

Majd néhány év múlva, amikor a tervezett szegedi biológiai kutatóintézetek felavatására, ill. az abban meginduló munkára kerül sor, joggal mondhatjuk, hogy az a nap fordulópontot fog jelenteni a hazai biológiai kutatás történetében. De a kritikus fázis nem az első munkanap lesz, és nem is a felavatás időpontja, hanem az a megelőző munka, amit ma kell befektetnünk. Bármennyire is igaz, hogy a szegedi intézetek tudományos eredményessége — egyetlen létjogosultsága — az ott dolgozók felelőssége lesz, mégis a ma munkáján múlik, a mi munkánkon múlik, akiknek esetleg nem lesz módjuk ott dolgozni, hogy megteremtik-e az előfeltételeit annak, hogy ott eredményes munkát lehessen végezni. Nemcsak arról van szó, hogy felszerelést és műszert időben tervezzünk, hogy a munka akadálytalanul megindulhasson. Talán még fontosabb az, hogy a kutatók, akik oda kerülnek, megfelelően felkészültek és a legalkalmasabbak legyenek és hogy a kutatási irányok, melyek ott helyet kapnak, éppen azok az irányok legyenek, amelyek akkor a legkorszerűbbek, amelyekre az adott időben elsősorban szükség van. A szegedi intézetek egységének vezető szerepet kell játszaniok a magyar elméleti biológiai kuta-

tásokban, amire a gyakorlat számos ága támaszkodhat. Ezeket a feladatokat csak akkor tudjuk helyesen ellátni, ha egyaránt felhasználjuk a ma vezető biológusainak tapasztalatait és megfelelően figyelembe vesszük az új tudományos generáció új utat kereső törekvéseit. Ez pedig pontosan visszavezet oda, ahonnan eltértünk: ilyen távlati tervezést csak megfelelően demokratikus módszerekkel lehet végezni.

Osztályvezetőségünknek gondja van arra, hogy ezt a lehetőség szerint megközelítsük. Talán világosabb lenne a dolog, ha néhány szót szólunk arról, mi is az a demokrácia. A lexikon szavai szerint a demokrácia olyan politikai rendszer, amelyben a hatalom forma szerint az egész nép kezében van, ténylegesen valamely osztály diktatúrájának politikai formája. Miután ezt a tételt a tőkés polgári demokráciák is igazolják, a szocialista demokráciát úgy jellemzi, hogy az annyival több, hogy a nép többsége, a dolgozó tömegek számára jelent igazi demokráciát. Ez sem tiszta demokrácia, párosul a proletárdiktatúrával. Hozzáteszi azonban, hogy a szocialista demokrácia nemcsak formális jogokat nyújt, hanem megteremti a dolgozók számára a feltételeket, hogy a jogokkal ténylegesen élhessenek is. Azt hiszem, ezekkel a megfogalmazásokkal többségünk egyetért és ezekből kiindulhatunk. Bizonyára a többség eleget átélt már ahhoz, hogy a „tiszta demokrácia" ellenforradalmi jelszavának nem ül fel többé és azt is tudjuk, hogy a primitív demokrácia, amely a szakemberek, a hivatásos és szakképzett vezetők szükségességét tagadja, szintén nem e világról való elképzelés. Csak a demokrácia reális fogalmaiból érdemes kiindulni és ennek tudatában lehet beszélni tennivalóinkról. Ha saját munkánkra kívánjuk alkalmazni a helyes elveket, tisztában vagyunk azzal, hogy a szervezeti keretek rendelkezésre állanak. A tudomány szervezését szerteágazó feladataival kétségkívül legjobban egy olyan intézmény tudja megvalósítani, amely bizottságok és tudományos társaságok útján kapcsolatban áll a szakemberek széles tömegeivel, meghallgatja véleményüket. Ugyanakkor nyilvánvaló, hogy a konkrét munka elvégzésére hivatásszerűen tudományszervezéssel foglalkozó, a tudomány lényegét megértő emberek szükségesek.

A problémák ott kezdődnek, hogy ezt a meglevő szervezetet hogyan használjuk fel, ill. ha nem használjuk fel helyesen, mik ennek az okai. Hiszen az Osztályvezetőségnek éppen az a feladata, hogy a szocialista demokrácia célkitűzése értelmében dolgozzék azon, hogy a demokratikus lehetőségekkel a kutatóknak minél szélesebb köre élhessen. Nyilvánvaló, hogy ma még ezzel kutatóink nem élnek. Ha csak azt veszem figyelembe, hogy a Nádor u. 7. alatt működő adminisztratív helyiségben, ahova az osztályra tartozó ügyek befutnak, milyen kérdések merülnek fel, azt látom, hogy a kérdések és problémák több mint 90%-a egyéni kérdés vagy kérés, intézetek anyagi támogatásától kezdve, egyes kutatók utazási ügyeiig, vagy bérkérdésig. Alig fordul elő, hogy valaki azzal keresné fel a hivatásos tudományszervező apparátust, hogy erre vagy arra az általános problémára felhívja figyelmét, vagy javas-

latot tegyen a munka (szervezési, vagy konkrét tudományos munka) javítására.

Ugyanez tükröződik bizottságaink és társaságaink életében is. A bizottságok legtöbb esetben úgy vélik, hogy feladatuk nem megy túl azon, hogy az Osztályvezetőség által előírt napirendi pontokat letárgyalják.

Bizonyos, hogy a demokratikus szervezeti formák között is szükség van vezetésre, el kell várnunk, hogy elsősorban a vezetőség, a bizottsági elnökök és titkárok, valamint a tudományos társaságok vezetőségei mutassanak irányt, gondoljanak idejében a problémák felvetésére. Érthető, emberi és szükséges is, hogy az elképzelésekkel rendelkező és tapasztalt vezetők úgy irányítják a a bizottságok és társaságok tárgyalásait, hogy saját meggyőződésüknek megfelelő eredményre jussanak.

Kétségtelen azonban, hogy az aktivitás még nem kielégítő. Sem a felmerült problémák kritikai értékelésével, sem pedig a problémák aktív felvetésével nem érik még el bizottságaink és más szerveink azt a mértéket, ami a közös munka, a demokratikus szervezeti forma nagy előnyeit kihasználná.

Nem lehet, azt hiszem, egy pillanatra sem arra gondolni, hogy ennek oka valamiféle félelem lenne. Nem tartunk ott, hogy akármilyen ellenvéleménynek kellemetlen következményei lennének. Biztos, hogy a passzivitás egyik oka a még mindig észlelhető múltbeli örökség, a rang és a befolyás, nem pedig a teljesítmény és tapasztalat tisztelete. Elég, ha arra utalok, hogy az őszi kutatóértekezleten az elnök először fiatalabb kutatókat szólított fel hozzászólásra és később professzorokat — ez feltűnést keltett — és egyesek helyeslően szóvátették. De az, hogy ilyesmi feltűnést kelt, mutatja, hogy a tekintélytisztelet helytelen formájával még telítve vagyunk. Ennek tulajdonítható olyan torzulása az akadémiai tudományszervezésnek, hogy egyes esetekben a tudományágak támogatásában és az intézetek szervezésében a kelleténél jobban érvényesül egy-egy vezető kutató akarata, mint az átgondolt tudománypolitika. Ezért kell mindent elkövetnünk és az elmúlt években egyet-mást már tettünk is annak érdekében, hogy a tudományszervezésben fiatalabb kutatóink az eddiginél nagyobb részt vegyenek és felelősséget vállalhassanak.

A másik faktor, ami biztosan szerepet játszik, az a nyugalomszeretet. Vajon érdemes-e megbírálni valakinek a tervjelentését, amikor az esetleg legközelebb viszont fog bírálni. Végül a harmadik faktor a vezetők hibája, akik jobban benne élnek a szervezésben, a dolgok több vonatkozását jobban látják, mint a bizottság egyszerű tagjai és nagyobb rutinjukkal röviden letorkolják a félénken kezdeményező egyéb hangokat.

Végső fokon két tényt kell leszögeznünk. Az egyik az, hogy a demokratikus tudományszervezés ugyanannyi, sőt talán még több felelősséget követel a demokráciával élni kívánó kutatóktól, mint amennyi jogot jelent. Végtére is a demokratikus tudományszervezés nem beleszólás, hanem a tervek alkotó irányítása.

A másik tény az, hogy az adott demokratikus keret önmagában csak forma, amely irányít és lehetőségeket ad. A vezetők és a vezetettek közös erőfeszítése tudja csak tartalommal megtölteni. Az Osztályvezetőség úgy érzi, hogy az elmúlt év során tett bizonyos erőfeszítéseket azért, hogy kutatóink fokozottabban élhessenek jogaikkal. Így igyekeztünk eleget tenni a szocialista demokrácia azon vonásának, amely a jogokkal való élést nemcsak eltűri, hanem elő is segíti. Számos jel mutatja, hogy kutatóink ezt a kezdeményezést elfogadják.

Bizonyos, hogy ha megvárnánk, hogy bizottsági és tudományos társasági demokráciánk megerősödjék, feladatainkat és konkrét tennivalóinkat könnyebben és biztosan jobban dolgoznánk ki. De ezt nem várhatjuk meg. Cselekednünk kell ma és holnap, de úgy kell cselekednünk, hogy ezen keresztül egyúttal megtanuljuk a helyes viták, helyes véleményalkotások és az önzetlen tervezés módszereit is.

A tudományszervezés kérdéseivel azért foglalkoztunk ilyen részleteséggel, mert úgy érezzük, a legjobb előfeltételeit kell megteremtenünk az eredményes alkotó tudományos munkának.

Soha, egy pillanatra sem szabad a szervezés közben elfeledkeznünk arról, hogy a tudományos eredmények elérése a fő és egyetlen célunk, amelynek egyik — biztosan lényeges eszköze — a jó tudományszervezés. Az elmúlt 20 év sok nehézsége ellenére nem egy szép eredményre tekinthetünk vissza. Az Akadémia intézeteinek, tagjainak és a támogatott tanszékeknek az elmúlt 15 év alatt, az MTA megújhodása óta a biológia terén elért eredményeit megkíséreltük összeállítani, ez részét képezi az Elnökség beszámolójának, így ezt ezen a helyen nem kívánom megismételni.

A biológiai kutatások számos területén elért maradandó eredmények mutatják, hogy a felszabadulás után tudományágunk fellendülésnek indult. A követelmények azonban, amit velünk szemben támasztanak, tovább nőttek. Sok erőfeszítésre lesz szükségünk a felszabadulás óta felnőtt új kutatógeneráció munkájára, lelkesedésére és ötletességére, hogy a következő évtizedben még több tudományos eredménnyel bizonyítsuk be, hogy a lehetőségekkel élni is tudunk.

MELLÉKLET

A BIOLÓGIAI TUDOMÁNYOK OSZTÁLYA VEZETŐSÉGÉNEK 1965. ÉVI KÖZGYŰLÉSI BESZÁMOLÓJÁHOZ

1. 1964. évi kutatómunka eredményei

a) Akadémiai intézetek

MTA Biokémiai Intézet

A gliceraldehid-3-foszfát dehidrogenáz enzimatikus hidrolizátumából nagy tagszámú, a szubsztrát-kötő helyet tartalmazó fragmentumot izoláltak és meghatározták aminosavösszetételét. Új reakciókinetikai megfontolások alapján következtettek az enzim működésének valószínű reakciómechanizmusára és az aktív centrum szerkezetére újabb modellt készítettek. Ezen belül kimutatták, hogy az aktív hely működéséhez egy hisztidin lánctag nélkülözhetetlen.

Fiziko-kémiai módszerekkel kimutatták, hogy a kristályos enzim — a molekulasúly szempontjából — polidiszperz rendszer. Specifikusan blokkolt aldoláz limitált proteolizisével enzimatikusan aktív fragmentumot állítottak elő, melyet struktúrkémiai és enzimológiai módszerekkel karakterizáltak.

MTA Biológiai Kutatóintézet

Fiziológiai, morfológiai és kémiai módszerek együttes alkalmazásával kimutatták, hogy kagylók idegrendszerében a szerotonin, mely a *Molluscák* fontos aktiváló hatóanyaga elsősorban az endoplazmás reticulumban lokalizálódik. Ugyancsak komplex vizsgálat kapcsán megállapítást nyert, hogy a *Gastropodák*tól eltérően *Lamellibranchiáták* központi idegrendszerében cholineszteráz csak kis mennyiségben van jelen.

Megállapították, hogy xantén vázas festékek jelenlétében látható fénynyel ritmikus aktivitás váltható ki embrionális izomszöveten, melynek mechanizmusa nagy valószínűséggel monovalens elektronátvitellel kapcsolatos. Sikerült különböző *Malacostraca* fajok proteolitikus enzimaktivitása pH-függésének megállapítása in vivo és in vitro kísérletekben.

Bentikus *Chironomida* vizsgálatok alapján a Balaton különböző vízterületeinek eltérő trófaviszonyait a botanikai vizsgálatok eredményeihez hasonlóan kimutatták.

MTA Botanikai Kutatóintézet

Az UNESCO Nemzetközi Biológiai Programja (IBP) előkészítő munkájával kapcsolatban egy új módszert dolgoztak ki, amely első ízbeni teljes alkalmazását jelenti a matematikai-statisztikának a „tabelláris fitocönológiá-

ban". Ezzel ökológiai szempontból egyértelműen összehasonlíthatókká válnak a Föld különböző fitocönózisú termőhelyei. — További új részeredményeket értek el az ártéri erdők periódikus és szukcessziós változásai, a kaszáló- és mocsárrétek, a Mátra hegyi rétjei és erdei, a szántóföldi gyomnövényzet, továbbá egyes gyógynövények *(Vinca, Solanum)* alkaloid képződésének ökológiai vizsgálatában. — A természetes *Linaria*-populációk genetikai-taxonomiai-ökológiai elemzését folytatták.

MTA Genetikai Intézet

Baktériumgenetikai vizsgálatokban a *Bacillus subtilis* kompetenciája kialakulási körülményeit tisztázták. *E. coli* hőérzékeny lambda phag mutánsokat izoláltak. Páfrányok mikroevolúciójában az autoploidia jelentőségét kísérletesen igazolták, tovább folyt szintetizált *Anagallis Doerfleri* hibridfaj vizsgálata és *Ranunculus* fajok karyotipus elemzése. Kimutatták a sugárérzékenységnek autoploidálásra bekövetkező csökkenését.

Zea négyszemsorosság kvantitatív genetikai elemzését végezték. Mennyiségi és minőségi jellegekkel és a mutációs elmélettel kapcsolatos egyes filozófiai vonatkozásokat tanulmányoztak. Állathibridek kvantitatív jellegeinek fenogenetikai elemzése tovább folyt az embrionális és posztembrionális korban.

b) Kutatócsoportok

Biofizikai Kutatócsoport

Elkészült a „Bevezetés a biofizikába" c. kézikönyv.

K és Ca-mentes „Ringer"-oldattal átáramoltatott békagastrocnemius elveszti direkt és indirekt ingerelhetőségét (átkapcsolva az átáramoltatást normális Ringer-oldatra, újra visszatér az ingerlékenység). Az ingerelhetetlen izom bőséges Na- és K-tartalommal rendelkezik, ami az ingerület kizárólagos ionelmélete ellen szól (és az elektron-transfert valószínűsíti).

Struktúrakutatás területén harántképződményeket találtak a nyugvó szarkomer izotrop szektorában; kioldásnál a Z képlet felé vándorol a szarkomer anyaga.

Dunakutató Állomás

A dunai vizek elemzésének kapcsán a Duna vízhozama és a vízben oldott sók mennyisége között korrelációt mutattak ki; az 1964-es év összes árhullámainak korrelációs elemzése alapján megállapították, hogy a korreláció koefficiense 0,85—0,93.

A „Limnologie der Donau" című monográfia számára saját kutatások és az irodalom alapján összeállították az egész Duna faunáját és flóráját.

Növényélettani Kutatócsoport

Tovább vizsgálták a gyökérrendszer eltávolításakor jelentkező enzimaktivitás változások természetét és jelentőségét. Megállapították, hogy izolált leveleken a légzés a pentózfoszfát ciklus javára tolódik el, ennek egyik bizonyítéka, hogy a fenol-természetű vegyületek izolált levelekben felhalmozódnak. Az izolált levelekben a protein bontódással egyidejűleg megnövekedett néhány dehidrogenáz és egyes oxidatív enzim aktivitása.

Hasonló jelenséget tapasztaltak a *Pseudomonas tabaci* toxinnal kezelt intakt és izolált dohány levelekben. Megállapították, hogy a fehérjeszintézist gátló inhibitorok nem tudják megakadályozni az észlelt enzimaktivitás emelkedéseket. Az eredmények nagymértékben valószínűsítik, hogy az említett enzimaktivitások növekedése nem enzimszintézissel magyarázható.

Talajzoológiai Kutatócsoport

Befejeződött a Magas-Bakonyban és a Bükk-hegységben 1963-ban megkezdett cönológiai felvételezés és megkezdődött a Dél-Bakony és a balatoni bazalthegyek cönológiai kutatása, a talajban, avarban élő ízeltlábúakkal kapcsolatban. Folytatódott a dél-balatoni mocsárrét-talajok *Nematoda*-közösségeinek vizsgálata.

Folytatták különböző növényfajok rhizoszférájában élő *Nematoda*-társulások tenyésztéses és az avarlakó *Diplopodák* és *Isopodák* táplálkozásbiológiájának kísérletes vizsgálatát.

Magyarországi, argentín, kelet-afrikai, közép-afrikai, mongol, izraeli fonálférgek, földi giliszták és atkák rendszertani, faunisztikai és ökológiai feldolgozását végezték.

c) Támogatott intézetek

ELTE Alkalmazott Növénytani és Szövetfejlődéstani Tanszék

Ultrastruktúra-kutatás terén megállapították, hogy a mák tejnedv természetes állapotban nem központi vakuolumban elkülönülő váladékanyag, hanem a sejtüreget teljesen kitöltő sejttartalom keverék.

Closteriumon és *Pandorinán* a plazmolízist, ill. csillómozgást tanulmányozták mikrokinematográfiás vizsgálatokkal.

Növényi szövettani vizsgálatok körében a virág és termés szerveződéssel összefüggő fejlődési elemzések, a *Hyoscyamus*nál a vegetatív szervek egyedfejlődése, *Umbelliferae*-knál az illóolaj kiválasztás strukturális és funkcionális vizsgálatai folytatódtak.

Új, biztonságos alkaloid kimutatási módszert dolgoztak ki. Az antrakotomiai vizsgálatok újabb adatokat szolgáltak a jégkorok vegetációtörténetéhez.

ELTE Állatrendszertani Tanszék

Sok, a tudományra nézve új állatfajt állapítottak meg. A pókszabásúak csoportjában 3 család részletes feldolgozása készült el. Vizsgálták barlangba telepített talajmezofauna fajok viselkedését, hasonló céllal algatenyészeteket, valamint steril táptalajok benépesedését. További alkalmazkodási kísérletük árva szúnyogok barlangi telepítése. A szisztematikai és ökológiai kutatásokat vízkémiai analízisekkel egészítették ki.

Elvégezték a Budai hegység barlangjai állatvilágának rendszertani meghatározását.

ELTE Növényélettani Tanszék

Tovább folyt a búza- és árpagyökerek, gyökérszegmentek és intakt növények ion-, valamint aminosav felvételi folyamatainak jellemzése. Kimutatták a bromid felvétel alacsony koncentrációjú folyamata K_m-jének a függését a hőmérséklettől; megállapították, hogy a tápanyaghiány gátló hatású a transzlokációra és 1 : 1 arányú aminosavkeverékek kompetíciója az ion kompetícióhoz hasonló. Standard jól reprodukálható szövettenyészeteknél vizsgálták a ^{32}P felhalmozásra ható tényezőket, a szövetek nukleinsav- és fehérjetartalmának alakulását a megvilágítás függvényében. Tanulmányozták fizikai, önkológiai tényezők hatását a rizs proteinszintézisére.

ELTE Növényrendszertani Tanszék

Elkészült „A magyar flóra és vegetáció rendszertani-növényföldrajzi kézikönyve" II. kötete, mely a hazai florisztikai és cönológiai kutatások korszerű szintézisét adja.

Feldolgozták a Zselic erdei bükköseit és összehasonlították az illir bükkösökkel, mely munka kitűnik gazdag erdészeti gyakorlati anyagával. Befejezést nyert a visegrádi hegység erdeinek feldolgozása és erről német nyelven cönológiai-synökológiai monográfia jelent meg.

A Délkelet-Európa regionális bükkös csoportjai és növénytársulásai német nyelvű cönoszisztematikai monográfia megjelent, mely feldolgozza e területek bükköseit és mészkerülő erdőit.

ELTE Származás- és Öröklástani Tanszék

Kukorica öröklődően rendellenes kloroplaszt szerkezeti mutánsai öröklődésmenetét és a pigmentszintézisben jelentkező különbségeket tisztázták, különös tekintettel a pigment-protein komplex stabilitására.

A 2,4-D-vel szembeni rezisztenciát és szenzitivitást meghatározó citoplazmatikus tényezőket mutattak ki.

Egyszerű laboratóriumi és ipari megvalósításra alkalmas és gazdaságos DNS előállítási módszert dolgoztak ki

Biokémiai részleg:

Az alkáli földfémek szerepét vizsgálták az izomműködés alapjelenségeiben, különös tekintettel a kontraktilis fehérjékre.

JATE Állatrendszertani Tanszék

A Tanszéken a fosszilis korallokra, *Balanidák*ra és a pleisztocén kori puhatestűekre vonatkozó kutatások rendszertani, törzsfejlődéstani, mikrosztratigrafikai értékűek és részben gyakorlati geológiai szempontból hasznosíthatók.

1964-ben a Tisza szolnoki mederszakaszának és holt Tisza ágának limnológiai kutatása befejeződött.

A sejtgenetikai témák a *Protozoák* ultrastrukturális vizsgálata és a paprikafajok keresztezése terén értek el eredményeket.

BOTE Anatómiai Intézet

A thalamusban általánosan előforduló komplex synapsisokat fény és elektronmikroszkópi módszerekkel részletesen elemezték. A pulvinár nagy glomeruláris synapsisai sajátos szerkezete és az azokat teljesen körülvevő gliahüvely egyértelműen bizonyítja az Intézet kutatói által bevezetett „komplex synapsis" — fogalom realitását és jelentőségét a neuronális kapcsolások funkciós morfológiai elemzésében. — A kisagy gátló működésű kosársynapsisának és az idegrendszer egyik leghatékonyabb excitatorikus synapsisának a kúszórost synapsisoknak ultrastrukturális vizsgálatát végezték.

BOTE Orvosi Vegytani Intézet

A *Chlamydomonas* algák arginin bioszintézisének tanulmányozásával megállapították, hogy a végtermék-gátlással szabályozott folyamat olyan alloszterikus enzimmel indul, amely az eddig ismert alloszterikus enzimekkel szemben kitűnik a szabályozóhely nagy stabilitásával.

A ribonukleáz-reaktiváló enzim tisztításával megállapították, hogy hatásmechanizmusa nem oxidatív, hanem izomerizáló működés eredménye. Valószínűsítették, hogy az enzim működéséhez szükséges oxidációs lépést fiziológiásan a dehidroaszkorbinsav redukciója kíséri.

A pankreász enzimek keletkezésének tanulmányozására kidolgozták a pankreász riboszómák segítségével történő in vitro fehérjeszintézis feltételeit. A riboszómák homogenitásának ellenőrzésére szolgáló gélelektroforetikus módszereket dolgoztak ki mind a fehérjék, mind a nukleinsavak identifikálására.

BOTE Szövet- és Fejlődéstani Intézet

A thymus hámsejtek tiszta tenyészetében sikerült megfigyelni olyan jelenségeket, melyek jelentős szerepet játszhatnak a thymus immunbiológia szerepében a transzformációs kompetencia átadásban (mitochondrioszomai intraepithelis thymocyta vándorlás).

Új ependymalis szervet, a recessus szervet ismerték meg a neurosecretio submikroszkópos és autoradiográfiás vizsgálataiban.

Értékes megállapítások születtek a fotoreceptorok ultrastruktúrájának területén.

Sikerült egy új — heparin transportőrrel rendelkező — cytostatikumot előállítani, melynek mint gyógyszernek bevezetése folyamatban van.

POTE Anatómiai Intézet

Az Intézetben kidolgozott módszerrel az agy többi részétől izolált „hypophysiotroph area" fenntartja a hypophysis mellső lebenyének normális cytológiai szerkezetét és alapszintű ACTH, GTH és TSH-funkcióját, de nem biztosítja a cyklikus gonadotropin szekréciót.

Kimutatták mesterséges neuronok felhasználásával egy korábban logikai módszerekkel a járás-mechanizmus kivitelezésére szerkesztett neuronhálózat működőképességét.

POTE Biofizikai Intézet

Lásd Biofizikai Kutatócsoport

Agrártudományi Egyetem Mikrobiológiai Tanszék

A *Streptomyces*ek paraszexszualitása vagy heterokaryozisa genetikai hatásának további vizsgálataihoz előállítottak biokémiai mutánst. A *Streptomyces*ek sejtmagjának organizációs viszonyait elektronmikroszkópikusan vizsgálták.

A klóraminotriazin hatóanyagú Hungazin gyomirtószerek felhasználásának elősegítésére elkészült a „Hungazin szerek magyarországi felhasználhatóságá"-nak térképe.

Agrártudományi Egyetem Növénytani és Növényélettani Tanszék

A vizsgált halastavakból 21 új taxont mutattak ki. Megállapították, hogy a halastavakba juttatott szervestrágya főleg a *Clorococcale*sek és a *Cyanophyton*ok elszaporodását eredményezi; a *Scenedesmus* genusnál korábban felismert párhuzamos fejlődési tendenciák más nemzetségnél is törvényszerűen megismétlődnek.

Kimutatták, hogy a fehérje és szénhidrát produkció részesedési aránya a sugárzás spektrális összetétele függvényében ellentétesen változik, ellentétes a szárban és a levélben.

Megállapították, hogy a Rába-ártéren a rétek és legelők közül a franciaperjés, ecsetpázsitos és réticsenkeszes állományok biztosítanak legjobb és legnagyobb szervesanyag produkciót.

Természettudományi Múzeum Állattár

A „Magyarország állatvilága" soron következő részeinek megírása és megjelentetése, valamint az ország tervszerű faunakutatásának végzése mellett eredményesen vizsgálták a rétek és legelők atkafaunájának szerepét a monieziozis terjesztésében, fenntartásában és azokat a fajokat, amelyek mint köztes gazdák jelentőséggel bírnak. Tovább folyt az országos fénycsapdahálózattal gyűjtött anyag kiértékelése. A kártevő fajok előrejelzését fejlesztve kidolgozták a kétgenerációs bagolylepkék előrejelzését is.

Természettudományi Múzeum Embertani Tár

A magyarországi ősemberkutatás szempontjából nemzetközi jelentőségű a vértesszőlősi középső pleisztocén-kori lelőhely feltárása. 1964-ben tovább finomították a csontváz leletek biokémiai analízisének módszerét a dekomponálódás folyamatát befolyásoló tényezők feltárásával.

Újabb leletcsoportok felhasználásával bővítették ismereteinket a történeti emberi populációkról. A baskiriai etnikai vizsgálatok hozzájárultak a magyar őstörténet megismeréséhez.

Természettudományi Múzeum Növénytár

A növénytársulások összehasonlító ökológiai vizsgálata terén a hazai erdők déli kapcsolataival összefüggésben a Balkánon végeztek kutatásokat. — A harmadidőszaki flórák kutatása a Wind-gyári felsőoligocén teljes feldolgozását és a középső oligocénből *Euphorbiaceae*-fajok kimutatását eredményezte.

A Balaton üledékeinek újrendszerű mintavétele és pollenstatisztikai feldolgozása *Zea* és *Juglans* pollen statisztikus értékelésével abszolút kormeghatározást tett lehetővé.

— Cytotaxonómiai vizsgálatok új természetes *Gramineae* polyploid sorokat mutattak ki. Növényfajta minősítő bizonylatot nyertek a Pc 17 és Pc 20 új csiperke fajták.

2. Osztályvezetőség

Az MTA Elnöksége 17/1964. sz. határozatában jóváhagyta a Biológiai Tudományok Osztálya újjáválasztott vezetőségét a következő összetételben:

Osztálytitkár: Straub F. Brunó

Választott osztályvezetőségi tagok: Dudich Imre
Törő Imre
Szentágothai János
Zólyomi Bálint

Tanácskozási joggal rendelkező osztályvezetőségi tagok: Balogh János
Faludi Béla
Szabolcsi Lászlóné
Tigyi József

3. Bizottságok és témabizottságok

A Biológiai Tudományok Osztályához tartozó bizottságok a két közgyűlés közötti időszakban 32 ülést tartottak.

Biofizikai Bizottság:	4 ülés
Biokémiai Bizottság	4 ülés
Botanikai Bizottság:	4 ülés
Funkcionális Struktúrakutatási Bizottság:	3 ülés
Genetikai Bizottság:	6 ülés
Zoológiai Bizottság:	4 ülés
Antropológiai Témabizottság:	3 ülés
Hidrobiológiai Témabizottság:	4 ülés

Az MTA alapszabálya értelmében 1964. folyamán sor került a Biológiai Tudományok Osztálya mellett működő szakbizottságok újjáválasztására, melyek összetétele a következő:

Biofizikai Bizottság

Elnök:	Ernst Jenő		Tarján Imre
Titkár:	Niedetzky Antal		Várterész Vilmos
Tagok:	Tigyi József		Baumann Miklós
	Frenyó Vilmos		Kertész László
	Guba Ferenc		Koczkás Gyula
	Juvancz Iréneusz		Ladik János

Biokémiai Bizottság

Elnök:	Farkas Gábor	Tagok:	Straub F. Brunó
Titkár:	Gárdos György		Banga Ilona

Szabolcsi Lászlóné
Biró Endre
Bot György
Cseh György
Dévai Márta
Garai András
Mányai Sándor
Székessy Vilmosné
Tankó Béla
Wollemann Mária

Botanikai Bizottság

Elnök: Zólyomi Bálint
Titkár: Horváth Imre
Tagok: Soó Rezső
Máthé Imre
Kárpáti Zoltán
Sárkány Sándor
Szalai István
Ubrizsy Gábor
Böszörményi Zoltán
Dézsi László
Faludi Béláné
Felföldy Lajos
Haraszty Árpád
Nagy Lászlóné
Südi János
B. Varga Magda
Kedves Miklós
Pócs Tamás
Précsényi István

Funkcionális Struktúrakutatási Bizottság

Elnök: Törő Imre
Titkár: Csillik Bertalan
Tagok: Ábrahám Ambrus
Krompecher István
Szentágothai János
Biczók Ferenc
Flerkó Béla
Fridvalszky Loránd
Garamvölgyi Miklós
Székely György
Hadházy Csaba
Rőhlich Pál
Zs. Nagy Imre

Genetikai Bizottság

Elnök: Győrffy Barna
Titkár: Ernhaft József
Tagok: Horn Artur
Alföldi Lajos
Bálint Andor
Beke Ferenc
Dániel Lajos
Faludi Béla
Fábián Gyula
Horváth János
Szabó Gábor
Szilágyi Gyula
Tamássy István
Ács Tamás
Thoma Andor

Zoológiai Bizottság

Elnök: Dudich Endre
Titkár: Kovács János
Tagok: Kotlán Sándor
Kaszab Zoltán
Székessy Vilmos
Andrássy István
Ádám György
Bende Sándor
Jermy Tibor
Salánki János
Soós Árpád
Tigyi András
Török László

Antropológiai Témabizottság

Vezetője:	Nemeskéri János	Acsádi György
Tagok:	Backhausz Richard	Dezső Gyula
	Lipták Pál	Eiben Ottó
	Malán Mihály	Farkas Gyula
	Tóth Tibor	Rajkai Tibor

Hidrobiológiai Témabizottság

Vezetője:	Hortobágyi Tibor	Szemes Gábor
Tagok:	Entz Béla	Uherkovich Gábor
	Megyeri János	Dvihally Zsuzsa
	Ponyi Jenő	Tóth János

Komplex Bizottság

„A molekuláris biológia kifejlesztése" c. kiemelt akadémiai feladat komplex bizottsága:

Elnök:	Straub F. Brunó	Dénes Géza
Titkár:	Szende Kálmán	Elődi Pál
Tagok:	Bruckner Győző	Rajki Sándor
	Ivanovics György	Romhányi György
	Ernst Jenő	Tüdős Ferenc

4. A Biológiai Osztály 1965. évi létszámkerete, költségvetési előirányzata, támogatási és beruházási kerete

fő és ezer Ft

	Létszám-keret	Költségvetési előirányzat	Akadémiai támogatás	Beruházási keret	2+3+4 előirányzat összesen
	1	2	3	4	5
Akadémiai intézetek	194	11 353	10	6 021	17 384
Támog. intézmények	104	—	4 987	4 153	9 140
Biol. Társaságok	—	37	—	—	37
összesen:	298	11 390	4 997	10 174	26 561

A) Akadémiai intézetek részletezése:

fő és ezer Ft

	Lét-szám-keret	Költségvetési előirányzat	Akadé-miai tá-mogatás	Beruházási keretek			
				gép- és műszer		egyéb	beruházás együtt
				belföldi	import		
Biokémiai Int.	55	3 023	—	1 079	1 925	48	3 052
Biológiai Kut. Int.	48	3 500	10	467	1 794	142	2 403
Genetikai Int.	57	2 630	—	36	187	—	223
Botanikai Kut. Int.	34	2 200	—	201	142	—	343
összesen:	194	11 353	10	1 783	4 048	190	6 021

b) *Támogatott intézmények részletezése :* (tudományterületenként)

fő és ezer Ft

	Lét-szám-keret	Akadémiai támogatás	Beruházási keretek			
			gép- és műszer		egyéb	beruházás együtt
			belföldi	import		
Biofizika	18	2230	142	329	—	471
Biokémia	8	360	150	830	—	980
Embertan	1	20	—	—	—	—
Genetika	9	182	1007	315	—	1322
Mikrostruktúra	27	995	315	624	—	939
Növényélettan	15	720	45	39	34	118
Rendszertan	26	480	100	198	25	323
összesen:	104	4987	1759	2335	59	4153

5. Könyv- és folyóiratkiadás

a) 1964. év folyamán megjelent könyvek:

Ábrahám Ambrus: Die mikroskopische Innervation des Herzens und der Blutgefässe von Vertebraten.

Soó Rezső: A magyar flóra és vegetáció rendszertani növényföldrajzi kézikönyve. I.

Soó Rezső: Die Regionalen Fagion- Verbände und Gesellschaften Südosteuropas.

Törő I.—Csaba Gy: Az ember normális és pathológiás fejlődése.

Dévényi Tibor: Fehérjék primér szerkezet-kutatásának problémái és eredményei.

Horánszky András: Die Wälder des Szentendre—Visegrader Gebirges.

Sebgyógyulási Symposion.

Spermium Symposion.

Magyarország Állatvilága :

Erdős József: Fémfürkészek VII.

Steinmann Henrik: Szitakötő lárvák.

Pellérdy László: Sejtélősködők II.

Szalay László: Vízi atkák.

b) 1964-ben megjelent folyóiratok:

Acta Biologica XIV. 4., XV. 1, 2. suppl. 6.

Acta Botanica X. 1—2, 3—4.

Acta Zoologica X. 1—2, 3—4.

Anthropológiai Közlemények VII. 3—4, VIII. 1—2.

Állattani Közlemények LI. 1—4.

Biológiai Közlemények XII. 1.

Botanikai Közlemények LI. 1—3.

Biológiai Tudományok Osztályának Közleményei VII. 1—2, 3—4.

6. Tudományos minősítések

1964. évben a Tudományos Minősítő Bizottság a következőket minősítette:

a) doktorok:

Mészöly Gyula
Szabolcsi Lászlóné
Tétényi Péter
Tigyi József

b) kandidátusok:

Balázs András
Borhidi Attila
Gáspár László
Gubicza András
Kiss Árpád
Kotvics Gizella
Kovács Antal
Pozsár Béla
Rajki Sándorné
Sinkovics Mária
Szilágyi Gyula
Verzár Rezsőné

7. Külföldi kapcsolatok

a) Beutazások:

1. Kultúregyezmény keretében	20 fő
2. Akadémiai meghívással	15 fő
3. Magánjellegű beutazás akadémiai támogatással	11 fő
összesen:	46 fő

b) Kiutazások:

1. Kultúregyezmény keretében	24 fő
2. Kongresszusi kiküldetés	31 fő
3. Magánjellegű kiutazás akadémiai támogatással	11 fő
4. Államközi kulturális egyezmény keretében	4 fő
5. Ösztöndíjas, kurzus, tanfolyam	8 fő
6. Külföldi meghívás	11 fő
összesen:	89 fő

c) A *b)* pont alatt említett kiutazások között a Biológiai Tudományok Osztálya támogatásával 3 hónapnál hosszabb tanulmányúton volt 14 fő

d) Egyezményes témák

1. *Akadémiai intézetek*

Biokémiai Intézet	1 cseh
Genetikai Intézet	1 cseh
	1 román
	2 lengyel
	1 német
Biológiai Kutatóintézet	2 cseh
	1 szovjet
	1 jugoszláv
Botanikai Kutatóintézet	1 cseh

2. *Támogatott intézetek, ill. tanszékek*

ELTE Növényrendszertani Tanszék	1 román
ELTE Növényélettani Tanszék	
Növényélettani Kutatócsoport	1 román

ELTE Alkalmazott Növényélettani Tanszék	1 német
ELTE Származás- és Örökléstani Tanszék	1 lengyel
BOTE Orvosi Vegytani Intézet	1 cseh
BOTE Anatómiai Intézet	1 cseh
	2 szovjet
	1 jugoszláv
BOTE Szövet- és Fejlődéstani Intézet	2 román
	3 jugoszláv
POTE Anatómiai Intézet	2 cseh
	1 jugoszláv
POTE Biofizikai Intézet	1 szovjet
TTM Állattár	1 cseh
	1 lengyel
Agrártud. Egyetem Állatgenetikai KCs.	1 cseh
összesen:	32 téma

8. Rendezvények

a) Osztályrendezvények

1. *Székfoglaló előadás*
   Farkas Gábor

2. *Felolvasó ülések*

   Hazai előadók:
   Tigyi József
   Külföldi előadók:
   J. I. Harris
   P. N. Martinovitsch
   H. Knöpp
   A. V. Palladin

3. „*A citológia időszerű kérdései*" kollokvium

Előadók:
Győrffy Barna
Rappay György
Kormos József
Lantos Tibor
Guba Ferenc
Garamvölgyi Miklós
Fridvalszky Loránd
Rőhlich Pál
Hámori József
Salánki János
Lábos Elemér

4. *Biológus munkaértekezlet* 1964. november 29.

b) Egyéb rendezvények

Magyar Biológiai Társaság Vándorgyűlése
Budapest, 1964. május 28—30.
Magyar Biofizikai Társaság Vándorgyűlése
Budapest, 1964. augusztus 26—28.

9. Jutalmazás

a) Akadémiai jutalomban részesült:

II. fokozat: Hoffmann Tibor és
Ladik János

III. fokozat: Sebestyén Olga
Gárdos György
Jakucs Pál

b) Elnöki jutalomban részesült:

Loksa Imre
Várterész Vilmos
Aros Béla, Vigh Béla
Garai András, Sági Ferenc, Szilvai Margit
Steinmann Henrik

A BIOKIBERNETIKA PROBLÉMÁIRÓL

ERNST JENŐ

POTE Biofizikai Intézet, Pécs

A biokibernetika művelése még messze elmarad a kibernetika matematikai elméletének és technikai gyakorlatának nívójától és terjedelmétől. Mert ha képviselnek is bizonyos értéket elektronikus analógiák, mégis elsősorban a biológiai rendszereken végzett experimentális munka — a mikrostruktúra, biofizika, biokémia együttes szemléletében — szállíthat valódi adatokat a biokibernetika számára.

A felmerülő problémákat talán egy-két példán próbálnám illusztrálni.

A kibernetika = információelmélet + automatika

felfogása alapján esetleg feloszthatjuk a biokibernetika kísérletes művelését: *a)* az információelméleti kutatás a

jeladás	kódolás	vezetés	dekódolás	effektor
bemenet	receptor	csatorna	szinapszis	készülék

sémája alapján mindenekelőtt kell hogy tisztázza ezen — a technikában világos — fogalmak jelentését a biológiában. Aztán keresse és kimutassa strukturális lokalizációjukat és biofizikai-biokémiai természetüket. *b)* Az automatikára vonatkozó kutatásnak szintén tisztáznia kell, hogy milyen feltételek között alkalmazható biológiai folyamatra a visszacsatolás (visszajelentés) kibernetikai fogalma, aztán következzék az előbb említett experimentális „aprómunka".

Ezen a téren ismételten felmerülnek olyan jelenségek, amelyek — véleményem szerint — alapos diszkussziót követelnek. Pl. egy modern kiadványban (1963), amely „Az állatok akusztikai viselkedéséről" szól, olvashatjuk a következőket: „az öninformációs rendszer, mely egy és ugyanazon állatban (denevér) tartalmaz szervet, amely kibocsát akusztikus jelet és egy (másik) szervet, amely felfogja ezen jel visszhangját, hasonlít egy feed-back fiziológiához." Véleményem szerint félrevezető, ha visszacsatolásnak tekintjük a gége által kibocsátott ultrahang visszaverődésének felfogását ugyanazon állat füle által,* hiszen maga a fül aligha szabályozza a gége hangadó működését.

* Ilyen mentalitással megjelenhetnének biokibernetikának tekintendő cikkek a tihanyi visszhangról; de ez épp olyan megalapozatlan lenne, mint az előbbi leírás a denevérrel kapcsolatban az ultrahang visszhangjának a fül által való felfogásáról.

Sőt továbbmenve még az a kérdés is felmerül, hogy információnak tekinthető-e a fül által felfogott visszhang, vagy pedig csak az a már kódolt üzenet, amely a fülből vezetődik az agy felé. Mert hiszen információ alatt az információtartalom, vagy hírtartalom értendő, viszont a fül-receptorba a visszhang *hírkészlete* jut be.

Ugyancsak kétségek merülhetnek fel az irodalom egyes leírásaival kapcsolatban, amelyek a hormonrendszeren belüli, tehát csak hormonkölcsönhatásokkal működő regulációt biokibernetikai visszacsatolásként kezeli. Hiszen a kémiai egyensúly legegyszerűbb példája az

$$A + B \rightleftarrows C + \text{hő}$$

formájában is szabályozott rendszernek tekinthető, pedig természetesen helytelen lenne kibernetikai szabályozásról beszélni vele kapcsolatban.

A biológiai rendszer kutatása a feladat; nem szabad, hogy leegyszerűsített analógiákkal megelégedjünk a részletek bonyolult kapcsolata helyett. De nemcsak a biológiai rendszer komplikált, hiszen már egy szervo relé sem tekinthető lineáris szisztémának, sőt a fizikai szisztémák is általában nemlineárisak. Továbbá a nemlineáris fizikai-technikai szisztémákban felmerülnek az idő haladásával kisebb-nagyobb változások, amelyeknek önműködő kompenzálása útján úgynevezett „önaptálódó szabályozó rendszerré" válhatnak. Még sokkal inkább érvényes ez a biológiai rendszerekre, amelyek számára az idő — véleményem szerint — a legfontosabb állapotjelző (ellentétben az élettelen természetre vonatkozó termodinamikával); ezért a biokibernetikában is az eddiginél lényegesen nagyobb szerepet kell kapjon.

Pl. az *Escherichia coli* tömege $\sim 2 \cdot 10^{-13}$ g és 20 perc alatt osztódik; ha felét vesszük fehérjének, akkor eszerint ~ 1000 mp alatt 10^{-13} g $\sim 10^6$ fehérje molekula képződik; minthogy az *E. coli*ban 10^4 ribosoma van, egy ribosomára 10^2 fehérje molekula képződése jut ~ 1000 mp, vagy 1 fehérjemolekuláé 10 mp alatt. Ha 10^5 a fehérje molekulasúlya és 10^2 egy aminosavé, akkor 1—1 aminosav időszekvenciájára 10 msec jutna, ha a fehérjeszintézissel kapcsolatban az RNS triplettek kódoló működését tekintjük. Más szemléletet jelent az RNS minta-jellegű szerepeltetése, ez esetben háttérbe szorul az időszekvencia kérdése, viszont előnyomul a kérdés, hogyan értelmezzük ez esetben az aminosavak egyidejű tömeges jelenlétét a sejten belül.

Midőn újra és újra sürgetem a kibernetikusok segítő együttműködését a biokibernetika művelőivel, ismételten hangsúlyozom, hogy a biokibernetika területén való eredményes működés főleg különböző szakképzettségűekből álló komplex csoportoktól várható; ennek előpróbája a POTE Biokibernetikai Bizottsága.

KÍSÉRLET BIOLÓGIAI CIKLUS MATEMATIKAI LOGIKAI ELEMZÉSÉRE

FLERKÓ BÉLA, ÁDÁM ANDRÁS és SZÉKELY GYÖRGY

Orvostudományi Egyetem Anatómiai Intézet, Pécs és MTA Matematikai Kutató Intézet, Budapest

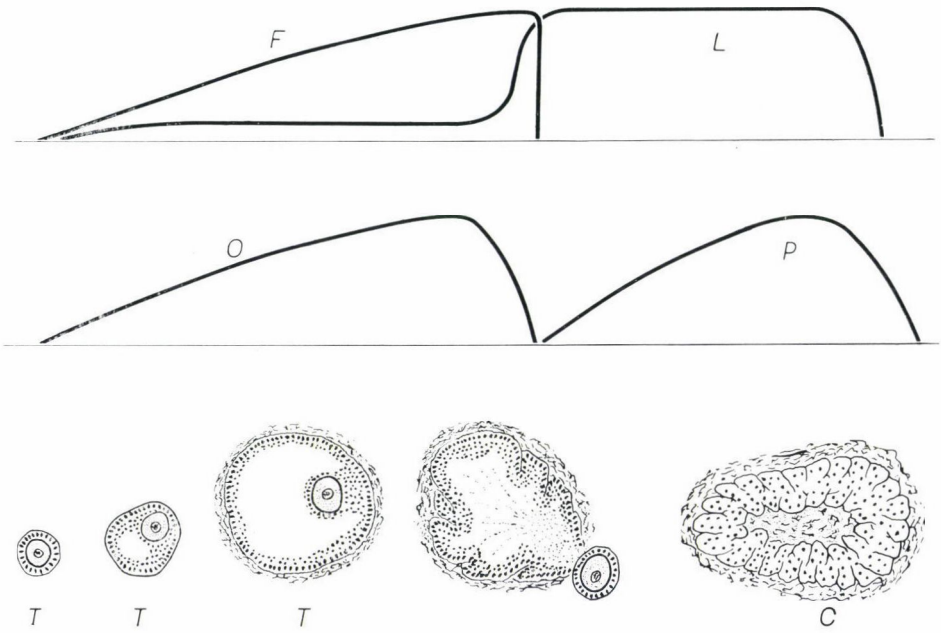
Régóta ismert, hogy a perifériás endokrin mirigyek (mellékvese, pajzsmirigy, gonadok) hormon szekréciójának fokozódása gátolja, csökkenése pedig fokozza az agyalapi mirigy megfelelő troph hormonjainak elválasztását. Hosszú ideig általánosan elfogadott nézet volt, hogy a perifériás endokrin mirigyek hormonjai közvetlenül hatnak a hypophysisre, azaz az agyalapi mirigy és a perifériás endokrin mirigyek egy zárt autoregulációs rendszert alkotnak, amely az idegrendszertől függetlenül szabályozza önmagát.

Bizonyos mértékig módosította ezt a szemléletet annak felismerése, hogy a hypophysis troph hormon szekrécióját nemcsak a perifériás endokrin mirigyek hormonszintje, hanem egyéb belső, és főleg sokféle külső környezeti tényező is befolyásolja, amelyek hatásukat a hypophysisre az idegrendszeren keresztül fejtik ki. Ez esetben is feltehető azonban, hogy a két különböző típusú, ti. idegi és hormonális szabályozó hatás a hypophysis szintjén integrálódik.

A hypophysis gonadotroph hormon szekréciójának hypothalamikus szabályozására vonatkozó kísérleteink adatai (FLERKÓ, 1954) azonban — más irodalmi adatokkal együtt — annak feltételezésére kényszerítettek, hogy a petefészki hormonoknak (oestrogen, progesteron) a tüszőérlelő (FSH) és luteinizáló (LH) hormonok szekrécióját szabályozó visszahatása nem a hypophysis, hanem a hypothalamus szintjén érvényesül. E feltevésünket különböző típusú kísérletekkel sikerült magunknak és másoknak is igazolni, illetve approximative meghatározni a petefészki hormonokra érzékeny hypothalamikus areákat (FLERKÓ, 1963, 1964, SZENTÁGOTHAI, FLERKÓ, MESS és HALÁSZ, 1962). Feltételezzük tehát, hogy a vérben levő petefészki hormonok egy bizonyos szintje, illetve kombinációi jelekként szerepelnek. Ezeket bizonyos hypothalamikus struktúrák felfogóberendezésként érzékelik, és azokra ún. „releasing factor"-ok (az adott esetben FSHRF vagy LHRF) kibocsátásával reagálnak. A releasing factorok a hypothalamo-hypophysialis portalis keringés útján a hypophysis mellső lebenyébe jutva stimulálják a megfelelő troph hormon (FSH vagy LH) leadását a vérpályába.

A gonadotroph hormon szekréció idegi szabályozására vonatkozó vizsgálataink során nyert adatokat a rendelkezésre álló irodalmi adatokkal rendsze-

resen szintetizálni törekedtünk egy, a női hormonális ciklust (menstruációs- vagy oestrus-ciklus) egyértelműen magyarázó hipotézis érdekében, ami mind ez ideig nem sikerült egyrészt a rendelkezésre álló kísérleti adatok elégtelensége másrészt azok sok vonatkozásban ellentmondó jellege miatt. Ilyen irányú törekvéseink adták az ösztönzést egy olyan próbálkozáshoz, amelynek kapcsán a ciklus hormonális összefüggéseit a matematikai logika segítségével kíséreljük meg analizálni.



1. ábra. A petefészki tüsző (T) fejlődése, majd az ovulációt követően corpus luteummá (C) történő átalakulása kapcsán lezajló gonadotroph (F, L) és petefészki (O, P) hormon szint ingadozások a női hormonális ciklusban

Ehhez első lépésként a ciklus hormonális vonatkozásait igyekeztünk a rendelkezésre álló biológiai adatokkal lehetőleg összhangban maximálisan leegyszerűsítve sematizálni az 1. ábra szerint.

A felhasznált biológiai adatok a következők.

1. A tüszőérlelő hormon szintje a ciklus kezdetétől az ovulációig nő a vérben, majd hirtelen csökken. Ez biztosítja az oestrogen termelő struktúra: a petefészki tüsző (T) kifejlődését, de önmagában nem biztosítja a tüsző oestrogen (O) produkcióját. Ehhez kis mennyiségű luteinizáló hormon jelenléte is szükséges. A továbbiakban a tüszőérlelő hormon megjelölésére szolgáló „F" szimbólum tehát tüszőérlelő hormont és kis mennyiségű luteinizáló hormont jelent.

2. A fokozódó tüszőérlelő hormon és állandó szintű kis mennyiségű luteinizáló hormon szinergizmusa fokozza a fejlődő tüszők O produkcióját.

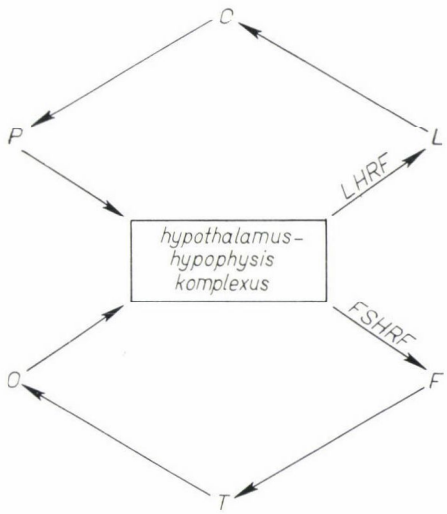
A vér egy bizonyos emelkedett O szintje leállítja az F szekréciót és hirtelen erősen fokozza a luteinizáló hormon elválasztását. A továbbiakban az L szimbólum nagy mennyiségű luteinizáló hormon jelenlétére utal.

3. A vér fokozott L szintje előidézi az ovulációt, a megrepedt tüsző corpus luteummá (C) történő átalakulását és biztosítja annak progeszteron (P) szekrécióját.

4. A vér egy bizonyos P szintje leállítja az L szekréciót és lehetővé teszi az F leadást.

Az egyszerűsítés kedvéért nem vettük figyelembe a „harmadik" gonadotroph hormont, az LTH-t (luteotroph hormon), amely a jelenlegi adatok szerint csak bizonyos speciesekben nélkülözhetetlen a corpus luteum progesteron szekréciójának fenntartásához. Az (1) — (4) pontokban megadott feltételezések egy része egyértelmű más része nem egyértelműen bizonyított kísérleti adat. Ezeket az adatokat szándékosan úgy választottuk meg, hogy a folyamat matematikailag könnyen kezelhető legyen.

Elöljáróban a feedback mechanizmusokkal kapcsolatban a hypothalamus szerepére vonatkozóan mondottakat figyelembe véve a ciklust a következő sémával jellemezhetjük:



A ciklus jellegéből adódóan feltételeztük, hogy O és P közül pontosan az egyik van jelen. Hasonló feltevést alkalmaztunk az F és L-re, ezeket az (1) és (2) logikai formula fejezi ki.*

* Mielőtt meggondolásainkat tovább folytatnánk, néhány bevezető megjegyzést teszünk az alkalmazott matematikai formalizmusról. Az időt (jelölése: t) — a valóságot leegyszerűsítve — diszkrét jellegű mennyiségként kezeljük, pontosabban: egész számokkal számozott időszakaszokat tekintünk, és úgy vesszük, hogy mindig két-két szomszédos szakaszt elválasztó pillanatban következik be változás. A —, &, →, ∨ jelek rendre a matematikai logikában bevezetett következő műveleteket jelentik: negáció, konjunkció, implikáció, kizáró diszjunkció. E fogalmakra vonatkozóan Varga Tamás: Matematikai Logika kezdőknek I. Tankönyvkiadó, Budapest, (1960), könyvére utalunk.

$$O(t) \vee P(t) \tag{1}$$

$$F(t) \vee L(t) \tag{2}$$

A hormonális egymásrahatások alapján a fentebbi ciklus-sémából négy implikáció absztrahálható a ciklusban szereplő különböző hormonális állapotok közötti átmenetek jellemzésére.

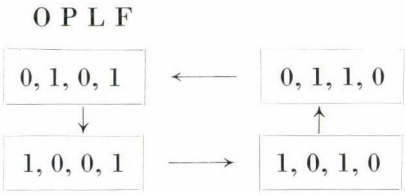
$$[O(t) \,\&\, \overline{P}(t)] \rightarrow [L(t+1) \,\&\, \overline{F}(t+1)] \tag{3}$$

$$[\overline{O}(t) \,\&\, P(t)] \rightarrow [\overline{L}(t+1) \,\&\, F(t+1)] \tag{4}$$

$$[F(t) \,\&\, \overline{L}(t)] \rightarrow [O(t+1) \,\&\, \overline{P}(t+1)] \tag{5}$$

$$[\overline{F}(t) \,\&\, L(t)] \rightarrow [\overline{O}(t+1) \,\&\, P(t+1)] \tag{6}$$

Minthogy az (1) és (2) logikai formulákat alkalmazva a (3) — (6) formulák történetesen éppen olyanok, hogy bármely lehetséges állapothoz egyértelműen meghatározzák az egy időegységgel utána következő állapotot, a következő állapotdiagram írható fel a ciklus négy különböző hormonális állapota egymásutániságának jellemzésére.



Ez az állapotdiagram biológiai nyelvezetre fordítva megfelel a fentebbi ciklus-séma által jellemzett lehetőségeknek. Segítségével a matematikus a logikai formulák változtatásával „gondolati" kísérleteket végzett s azok eredményét közölte a biológussal annak megállapítására, hogy azok mennyiben tükröznek biológiai valóságot vagy lehetőséget.

Számos ilyen próbálkozás közül egy, a legegyszerűbb példa az alábbi.

Az (1) formula szigorú meghatározásával szemben a matematikus azt az állapotot is megengedettnek vette, mikor O és P egy időben hiányozhat a hormonok közül. (1) formula tehát módosul

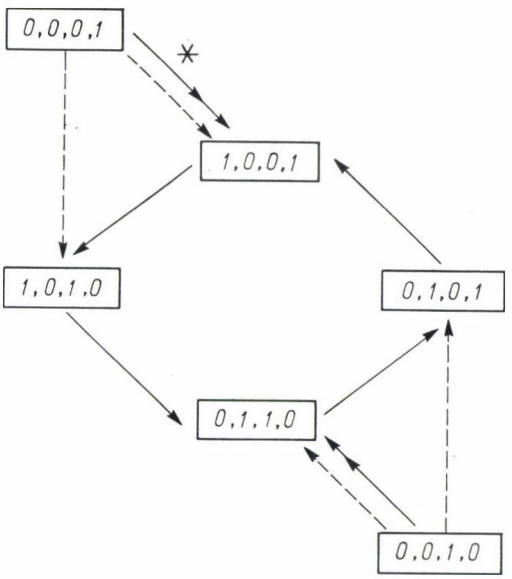
$$\overline{O(t) \,\&\, P(t)} \tag{1b}$$

A változtatás az előbbi négy állapot mellett két további állapot: (0, 0, 0,1) és (0, 0, 1, 0) jelenlétét adja meg. A (3) — (6) formula a hat állapot pontos egymásrakövetkezését nem adja meg, hanem az új állapotok az állapotdiagram 2—2 pontjához kapcsolódhatnak (lásd a szaggatott nyilakat). De ha a (3) — (6) formula által leírt jelenséget kiegészítjük a

$$[F(t) \,\&\, \overline{O}(t) \rightarrow F(t+1) \tag{7}$$

$$[L(t) \,\&\, \overline{P}(t)] \rightarrow L(t+1) \tag{8}$$

formulákkal, ez már egyértelműen megadja a két új állapot helyét az állapotdiagramban (lásd kettős nyilak).



Ez a „gondolati" kísérlet biológiailag azt jelenti, hogy ha eltávolítom a O-t és P-t (pl. ovariektomizálom az állatot) a ciklus megszűnik, s ha ismét ovariumot ültetek az állatba, a ciklus megindul. A matematikai vizsgálat szerint a ciklus megindulása az állapotdiagram kettős nyilakkal megjelölt szám négyesei által jellemzett hormonális állapotából indulhat meg attól függően, hogy a két hormonális állapotot jelző szám négyes melyikéből indulok ki. A matematikai logikai elemzés által nyújtott két lehetőség közül azonban biológiailag csak a csillaggal megjelölt lehetőség jöhet szóba.

Ez a rendkívül egyszerű példa is mutatja a matematikai logika alkalmazhatóságát és ennek útját a biológiai kísérletezésben: a matematikus által nyújtott értelmezési lehetőségek közül a biológusnak kell kiválasztania az ismert biológiai összefüggések alapján a biológiailag lehetséges változatot, illetve kiszűrni a biológiailag lehetetlent. Amennyiben a matematikai elemzés olyan lehetőséget vet fel, ami biológiailag lehetségesnek tűnik, de realitása a rendelkezésre álló biológiai adatok alapján nem evidens, a lehetőség biológiai értékét, illetve használhatóságát a lehetőség által felvetett biológiai kísérlettel kell eldönteni.

A matematikus a fentebb ismertetett egyszerű állapotdiagram segítségével még számos „gondolati" kísérletet végzett, amelyek értelmezési lehetőségei között szerepelt pl. a hypothalamus elülső részének elektrolitikus roncsolásával kiváltható jól ismert ún. „konstans vaginalis oestrus szindroma", amely ciklus zavarra a folyamatos F és O szekréció jellemző az ovulációhoz szükséges intenzív L és következményes P szekréció nélkül.

Finomabb matematikai modellel próbálkozva olyan irányba is kiterjesztettük a vizsgálatokat, hogy külön változót vezettünk be a hormontermelés feltételezett megindulására, mikor a hormon még csak a mirigyben van jelen (m), és arra, mikor az illető hormon már a vérbe is bejutott (v). Így a változók (Om, Pm, Lm, Fm, Ov, Pv, Lv, Fv) száma nyolcra emelkedett, ezek komplikáltabb állapotdiagramot és további matematikai logikai értelmezési lehetőségeket adtak. — A vizsgált biológiai folyamat természetesen a megadott logikai formulákon kívül még néhány száz másikkal is leírható, és az azokon történő változtatás kihat az állapotdiagram egyes pontjainak átmeneti irányára is.

A további fejlődést abban látjuk, hogy a logikai műveletekkel feltárt újabb összefüggések alapján új kísérleti kombinációkat tervezhessünk; az új biológiai adatok alapján viszont a logikai feltevéseket a valósághoz egyre közelebb vihessük. Azt reméljük, hogy a hormonreguláció problémáinak ez a „kétoldalú" megközelítése a kísérleti program pontos tervezése mellett biztosítja a nem informatív kísérletek elhagyását.

IRODALOM

1. FLERKÓ, B.: Zur hypothalamischen Steuerung der gonadotrophen Funktion der Hypophyse. Acta morphol. Acad. Sci. Hung., **4**, 475, (1954).
2. FLERKÓ, B.: The central nervous system and the secretion and release of luteinizing hormone and follicle stimulating hormone. Advances in Neuroendocrinology (Kiadó A. V. Nalbandov), University of Illinois Press, Urbana, 211 (1963).
3. FLERKÓ, B.: Neural aspects of the feedback action of ovarian steroids. Hormonal Steroids, Biochemistry, Pharmacology and Therapeutics: Proceedings of the First International Congress on Hormonal Steroids, Academic Press, New York, **1**, 221 (1964).
4. SZENTÁGOTHAI, J., FLERKÓ, B., MESS, B., HALÁSZ, B.: Hypothalamic Control of the Anterior Pituitary, Akadémiai Kiadó, Budapest (1962).

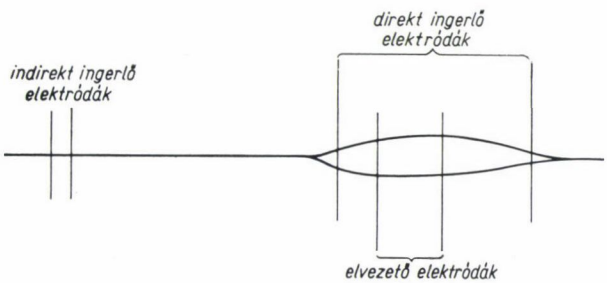
AZ INGERÜLET MINT KÓDOLT INFORMÁCIÓ

BIRÓ GÁBOR és KIRÁLYFALVI LÁSZLÓ

POTE Biofizikai Intézet, Pécs

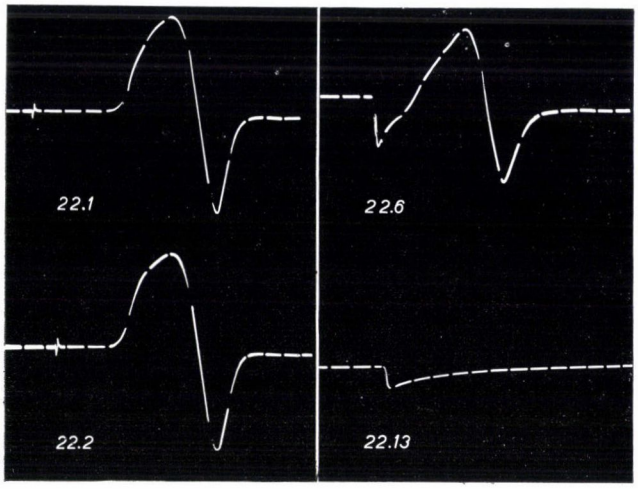
Intézetünk már korábban kifejtette, hogy fontos a kibernetikai szemléletmód kialakítása az ingerület és a vele rokon jelenségek vizsgálatánál is. Ennek érdekében állította fel Intézetünk azt a munkahipotézist, amely szerint az ingerület — az inger közvetlen hatására létrejövő biológiai állapot — kódolt ingerként fogható fel. Feltételezésünk szerint az ingerület — ingerületvezetés után — speciális átalakító berendezésekben — pl. synapsisban, ill. véglemezben — újabb kódoláson megy keresztül. Az ingerület hatására, ezen második kódolás után létrejövő biológiai állapot megjelölésére az izgalom kifejezést javasoljuk.

Kísérleteinkben a harántcsíkolt izom ingerületi és izgalmi állapotának összehasonlítására törekszünk, hogy ily módon a kódoló — a véglemez — működésére következtethessünk. Vizsgálataink az ingerületet és az izgalmat kísérő elektromos jelenség időbeli lefolyásának analízisére irányulnak.

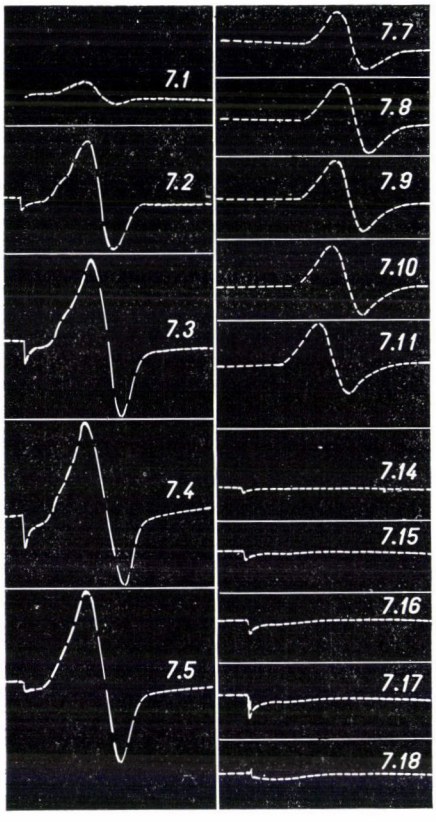


1. ábra. Az ideg-izom készítmény és az elektródák elhelyezésének vázlata

Eddigi kísérleteinkhez (1. ábra) a béka M. gastrocnemiusát tartalmazó ideg-izom készítményt használtuk. Az izom ingerületi állapotát direkt ingerléssel, izgalmát pedig indirekt ingerléssel idézzük elő. Az elektromos jelenségre a bifázisos akciósáramból következtetünk, amelyet az izom egy meghatározott helyéről vezetünk el és oszcillográffal regisztrálunk. Kísérleteinkben — a kódolás időigényének vizsgálata szempontjából — elsősorban az akciósáramok latenciaidejét vizsgáljuk.



2. ábra. Akciósáramok 6 V inger amplitúdó esetén



3. ábra. Akciósáramok 2—15 V inger amplitúdó esetén

A 2. ábrán három akciósáram látható az ingerbetöréssel együtt és egy kontroll felvétel a holtrafárasztott izomról, ahol csak az ingerbetörés látható (22 · 13-as kép). Ingerként itt 6 V amplitúdójú és 0,1 msec időtartamú négyszögimpulzust alkalmaztunk. A 22 · 1-es és a 22 · 2-es képet az ideg két különböző helyén történő indirekt ingerlésével és a 22 · 6-os képet az izom direkt ingerlésével kaptuk. A képeken az időjelzés 1 msec. Ebben az esetben 4, ill. 2,6 msec az izgalom és <1 msec az ingerület latenciaideje.

Kísérleteink egy másik részében (3. ábra) mind indirekt — 7 · 7—7 · 11 képek — mind direkt — 7 · 1—7 · 5 képek — ingerlésnél változtattuk az inger amplitúdóját, mégpedig — rendre — 2, 4, 6, 10 és 15 voltot alkalmaztunk. Direkt ingerlés esetében megfigyelhető, hogy az ingerlő feszültség növelésével a latenciaidő rövidül. (A 7 · 14—7 · 18 képek a holtra fárasztott izomról kontrollként készültek.)

Amennyiben az izom akciósáramát outputnak tekintjük az izgalom és az ingerület latenciaidejének különbözőségéből, feltételezésünk szerint, a kódolási időre következtethetünk, amelyben a neuromusculáris késésnek volna fontos szerepe.

A felvetett kérdésekre válaszolni — ezen bevezető kísérleteket követő — további kísérletek után kívánunk.

ELMÉLETI IDEGHÁLÓZAT KÉTÉLTŰEK JÁRÓMOZGÁSÁNAK MODELLÁLÁSÁRA

SZÉKELY GYÖRGY

Pécsi Orvostudományi Egyetem Anatómiai Intézete

Kétéltű embryokon a velőcső különböző szakaszainak átültetésével kimutattuk, hogy a végtagok koordinált mozgását csakis a gerincvelő végtagi szelvényei tudják irányítani (SZÉKELY, 1963). Ha az előzetesen eltávolított háti gerincvelői szakaszok helyére a mellső végtagokhoz tartozó gerincvelői szelvényeket ültettük, azok a melléjük transzplantált számfeletti végtagpárt a mellső végtagok ritmusában mozgatták. A hasonlóan átültetett hátsó végtagi szelvények által beidegzett számfeletti végtagpár a hátsó végtagok ritmusában mozgott. A háti gerincvelői szakaszok által beidegzett végtagok mozdulatlanok maradtak. A kísérletek arra utalnak, hogy a háti és végtagi gerincvelői szakaszok között valamilyen szerkezeti különbségnek kell lennie. A végtagi szelvények szerkezetének elemzését felnőtt farkos kétéltűek gerincvelőin végzett funkcionális vizsgálatok alapján kíséreltük meg.

Ha a gerincvelőt a középső háti szakaszon átmetszettük, a hátsó végtagpár átmenetileg mozdulatlanná vált. Amint azonban az állat mellső végtagjaival testét vonszolni kezdte, a hátsó végtagok is koordinált járómozgást végeztek. Ugyanakkor a farokizomzat erős, klonikus kontrakcióját lehetett észlelni. A hátsó végtagok mozgását meg lehetett szüntetni a farok levágásával vagy a gerincvelő átvágása alatti testrész bőrfelületének kokainos ecsetelésével, mely beavatkozás normális állat járását egyébként nem károsítja. A kísérlet arra utal, hogy a gerincvelő agyi impulzusok nélkül is képes a végtagok koordinált mozgását irányítani, de ilyen esetben a hátsó testrészből származó afferens impulzusok nélkülözhetetlenek voltak a koordinált végtagmozgáshoz.

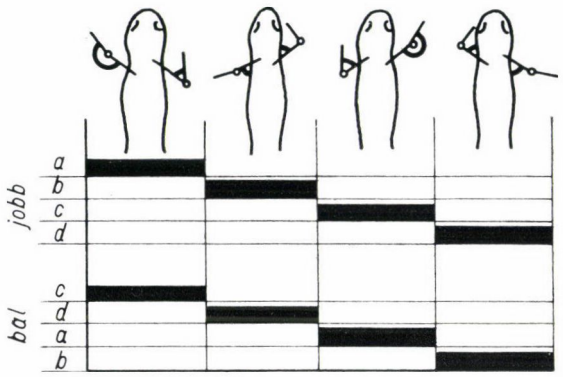
Más kísérletekben a hátsó végtagokhoz tartozó intervertebrális ganglionokat távolítottuk el. A deafferentáció az állatok normális járását nem befolyásolta. A kísérlet szerint a mozgó végtagokból eredő ritmikus afferens impulzusok nem szükségesek a koordinált végtagmozgáshoz.

Az állatok másik csoportjánál a gerincvelőt hosszában feleztük a hátsó végtagok magasságában. A gerincvelő két felének összeköttetése nélkül is normális maradt a járómozgás.

A végtagok mechanikai ingerlésére az ingerelt végtagok mindig olyan mozgással válaszoltak, ami megfelelt a járás éppen soron következő fázisának.

A megfigyelésből azt következtettük, hogy a gerincvelő végtagi szelvényei a végtagokat csak a járás mintázatának megfelelően tudják mozgatni.

A fenti megfigyelések alapján a szerkesztendő hálózat számára azt a feladatot tűztük ki, hogy bármilyen afferens impulzus hatására ritmikus impulzusokat bocsásson ki, és a résztvevő mozgató sejtek meghatározott sorrendben működjenek. A szerkesztés megkönnyítésére a járómozgást az 1. ábrán feltüntetett sémára egyszerűsítettük, ahol alkar feszítés, felkar közelítés, alkar hajlítás és felkar távolítás egymásutáni mozzanataiból áll egy lépés. Nem vettük figyelembe azt a tényt, hogy ezek a mozgások részben fedik egymást, elhanyagoltuk a kéz mozgását, továbbá a végtag kisfokú emelését és süllyesz-

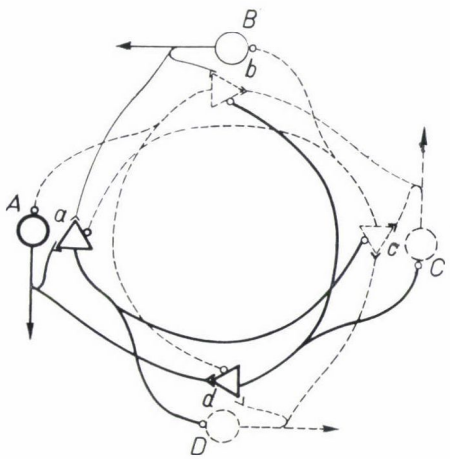


1. ábra. A lépés fázisainak egyszerűsített sémája *A)* alkar feszítők, *B)* felkar közelítők, *C)* alkar hajlítók, *D)* felkar távolítók

tését járás közben. Ily módon csupán 4 izomcsoport egymásutáni működtetéséről kellett gondoskodnunk, amit a 2. ábrán körökkel jelzett mozgató idegsejt csoportok végeznek. Minden mozgató sejthez egy-egy gátló sejt tartozik, amik háromszögekkel vannak jelölve. Az idegsejtek a 2. ábra szerint vannak összekapcsolva, és feltételezzük, hogy a körökkel jelölt sejteket állandó synaptikus izgatás éri. A gátló sejtek hatására a hálózat egyensúlyi állapotba jut, mígnem az egyik mozgató sejt ki nem sül. Történjék ez *A* sejtnél, ez ingerli *a* és *d* gátló sejteket, melyek gátolják *D* és *C* mozgató sejteket. *a* gátló sejt másik ága gátolja *c* gátló sejtet, és evvel megszünteti annak hatását *B* mozgató sejten; *b* gátló sejt *d* által történő gátlása pedig lehetővé teszi *A* ismételt kisülését. Az állandóan jelenlevő afferens impulzusok azonban hamarosan a nem gátolt *B* sejtet fogják működtetni, ez viszont hasonlóan gátolja *A* és *D* sejteket és a *C* sejtről távolítja el a gátlást. Így a következő működő sejt *C*, illetve az ezt követő fázisban *D* lesz, és a cyklus kezdődik elölről a megadott sorrendben.

A háromszögekkel jelölt gátló sejtek az ún. Renshaw sejteknek felelhetnek meg. Elektrofiziológiai módszerel kimutatták, hogy ezek a sejtek a mozgató sejtek axonjain keresztül aktiválhatók (Renshaw, 1941; Brooks és

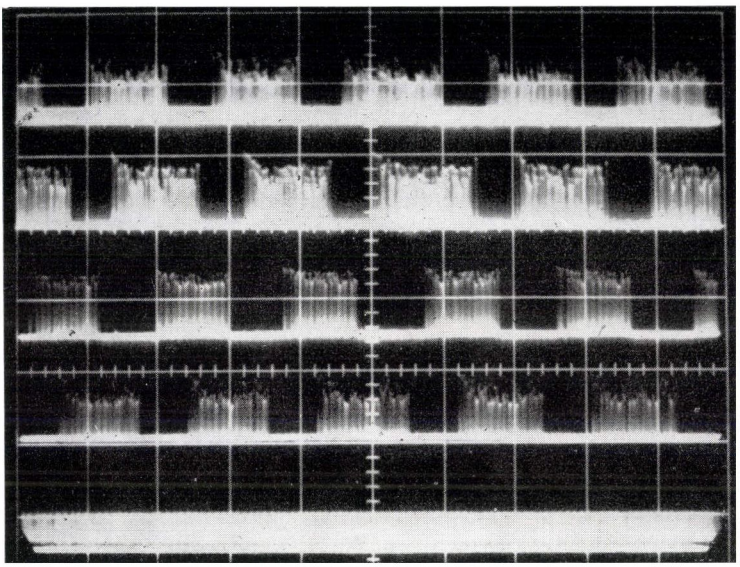
Wilson, 1959). Szentágothai (1958) szövettani készítményekben megtalálta a mozgató sejtektől a Renshaw sejtekhez menő axon-elágazódásokat. A Renshaw sejteknek a mozgató sejtekre való gátló hatását ugyancsak fiziológiai módszerekkel igazolták (Wilson és mtsai, 1960 b) és az anatómiai kapcsolatot szövettani vizsgálatok is kimutatták (Szentágothai, 1958). Wilson és mtsai (1960 a, 1962) farmakológiai és elektrofiziológiai vizsgálatokkal meggyőzően demonstrálták, hogy egyik gátló sejt gátolhatja egy másik működését, és ezáltal elősegítheti a megfelelő mozgató sejt kisüléseit. A felsorolt adatok a feltételezett kapcsolási formák realitására alapot nyújtanak.



2. ábra. Négy mozgató idegsejt (körök) és négy gátló idegsejt (háromszögek) feltételezett kapcsolatai. A villa alakú (—<) végződések ingerlő, a kör alakúak (—O) gátló végződéseket jelölnek. A vastag vonallal rajzolt sejtek (*A*, *a*, *d*) egy adott időpontban működnek, a vékony vonallal rajzolt sejt (*B*) a gátlás eltávolítása miatt ún. „válaszképes állapotban" van, a szaggatott vonallal rajzoltak gátolva vannak

A hálózatot Jenik (1962) által készített mesterséges idegsejtekből felépített modellen kipróbáltuk. Az $A - d$, $D - c$, $C - b$ és $B - a$ kapcsolatok megszakítása után a hálózat a kívánt módon működött (3. ábra), ha a nagybetűkkel jelölt egységekre 120—500/sec frekvenciájú szabályos vagy szabálytalan impulzussorozatot vezettünk. Érdekes megfigyelni, hogy az elemek közé iktatott 1-msec-os késés ellenére az egyes mozgató sejteket képviselő egységek működése 100—200 msec-ig tartott jelentős időbeli fedéssel a szomszédos elemek között. Az egységek működési ideje és a fedések nagysága a bemenő jel frekvenciájával és amplitúdójával arányosan változott. Kisfrekvenciájú és alacsony amplitúdójú bemenő jel esetén a szomszédos egységek egymásután működtek, időbeli fedések nélkül, a paraméterek növelésekor a működési idők meghosszabbodtak és 2, illetve 3 szomszédos sejt működési ideje fedésbe kerülhetett.

A hálózat működése matematikai módszerekkel is tanulmányozható, mely munkát Ádám András (MTA Matematikai Kutatóintézet, Budapest) végzi. Automaták strukturális elméletének matematikai eszközeivel kapott eredményeket cyklikus gráfokban ábrázolva kimutatta, hogy a hálózat eredeti formájában stabil, nem mehet át egyik állapotból a másikba. A módosított



3. ábra. Mesterséges idegsejtekből összeállított hálózatban a mozgató sejteket képviselő egységek akciós potenciálja katódoszcilloszkópon regisztrálva. A felső négy sor az *A*, *B*, *C*, és *D* egységek működését jelzi, az alsó sor a bemenő jel [500/sec impulzus] oszcillogramja. A négyzetháló egy beosztása 200 msec-nak felel meg

hálózaton viszont 3 átmeneti formát talált, melyek megfelelnek a szomszédos elemek időben elválasztott, fedés nélküli működésének, illetve 2 vagy 3 szomszédos elem működési idejében észlelt részleges fedésének. A továbbiakban nagy, de véges számú elemekből összeállított hasonló hálózat működését kívánjuk vizsgálni, valamint azt a problémát, hogy a kapcsolatok mekkora része lehet megbízhatatlan anélkül, hogy a hálózat működését rontaná.

IRODALOM

1. Brooks, V. B., Wilson, V. J.: J. Physiol., **146,** 380—391 (1959).
2. Renshaw, B.: J. Neurophysiol., **4,** 167—183 (1941).
3. Székely, G.: Embryol. exp. Morphol., **11,** 431—444 (1963).
4. Szentágothai, J.: Acta Morphol., Acad. Sci. Hung., **8,** 287—309 (1958).
5. Wilson, V. J., Diecke, F. P. J., Talbot, W. H.: J. Neurophys., **23,** 659—666 (1960a).
6. Wilson, V. J., Talbot, W. H., Diecke, F. P. J.: J. Neurophys., **23,** 144—153 (1960b).
7. Wilson, V. J., Burgess, P. R.: J. Neurophysiol., **25,** 392—404 (1962).

A FEHÉRJESZINTÉZIS KÓDOLÁSA

LADIK JÁNOS

Magyar Tudományos Akadémia Központi Kémiai Kutató Intézete, Budapest

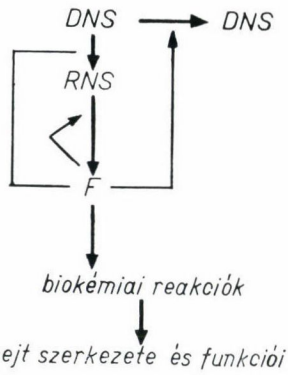
Mai ismereteink szerint a dezoxi-ribo-nukleinsavban (DNS-ben) található négyféle nukleotid bázis, az adenin (A), timin (T), guanin (G) és citozin (C) sorrendje a makromolekulán belül határozza meg a genetikai információt. Mivel a bázisok száma egy DNS molekulában 10^6 nagyságrendű, ilyen módon $4^{10^3} \approx 10^{6 \cdot 10^5}$ számú különböző genetikai üzenet valósulhat meg egy DNS molekulában. Egyszerű becslés útján meg lehet győződni arról, hogy ez a szám sok nagyságrenddel nagyobb, mint a Földön valaha előfordult összes élő egyedek sejtjeinek együttes száma.

A DNS bázisainak sorrendje első lépésben a küldönc (messenger) ribonukleinsav (RNS) bázissorrendjét határozza meg. A küldönc RNS a magból a fehérjeszintézis helyére, a citoplazmában levő riboszómákhoz kijutva viszont az egyes fehérjemolekulákon (F-on) belül az aminosavak sorrendjét kódolja. A DNS-ben hordozott információ által meghatározott különböző fehérjék viszont (mint a sejtben lefolyó különböző biokémiai reakciók katalizátorai) azt szabják meg, hogy milyen reakciók mehetnek végbe a sejten belül, az utóbbiak együttese pedig a sejt szerkezetét és funkcióit határozza meg. Ugyanakkor a létrejött fehérjék közül egyesek a DNS duplikáció, a DNS → RNS lépés, illetve a fehérjeszintézis folyamatában is részt vesznek katalizátorként. Ily módon ezek a fehérjék visszacsatolásokat hoznak létre a genetikai ciklusban. Az elmondottakat vázlatosan az 1. ábra mutatja be.

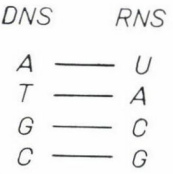
A DNS → RNS lépés kódolása megoldottnak tekinthető. Minden valószínűség szerint a 2. ábrán bemutatott Rich-féle [1] kód szerint határozza meg a DNS az RNS bázis-szekvenciáját. Érdekessége a folyamatnak, hogy *in vivo* körülmények között a DNS kettős spirálisnak csak az egyik szálja ad át információt az RNS-nek.

Sokkal bonyolultabb probléma az RNS → F lépés kódolása. Az RNS négyféle nukleotid-bázisa ugyanis a fehérjékben előforduló 20-féle aminosav beépülését kódolja. A folyamat meglehetősen bonyolult biokémiájából csak azt említenénk meg, hogy a fehérjeszintézis folyamán a riboszómához kötődött küldönc RNS bázis-szekvenciája szabja meg, hogy az aminosavra specifikus s-RNS molekulák milyen sorrendben kapcsolódjanak a küldönc RNS-hez

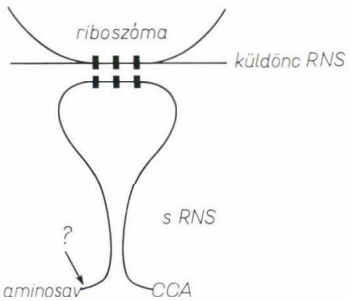
(Crick-féle fésű hipotézis). Az s-RNS molekulákhoz kötődött aminosavak ekkor a megfelelő sorrendben, polipeptiddé kapcsolódnak össze. Az s-RNS molekulák ezek szerint két specifikus részt tartalmaznak. Egyrészt a küldönc RNS kód-



1. ábra. A genetikai információ átvitele a sejtben



2. ábra. A Rich-féle DNS—RNS kód (U = uracil)



3. ábra. A Crick-féle fésűhipotézis a fehérjeszintézisre. (A kérdőjel azt fejezi ki, hogy nem tisztázott az aminosavaknak az s-RNS-hez való kötődési helye)

jának megfelelő bázisokat tartalmazzák, amelyek a Watson—Crick-féle bázis-korrelációknak megfelelően hidrogénkötésekkel tudnak kapcsolódni a küldönc RNS bázisaihoz. Másrészt valahol (ma még nem ismert helyen) egy aminosav specifikus részt is tartalmazniok kell, amelyhez a megfelelő aminosavat aktiváló specifikus enzim fajlagosan kötődni tud. A küldönc és az s-RNS szerepét a fehérjeszintézisben vázlatosan a 3. ábra mutatja be.

Az RNS→F lépés kódjánál az egyszerűség principiuma alapján feltételezték, hogy három bázis (trinukleotid) kódol egy aminosavat ($4^2 = 16$-féle dinukleotiddel nem kódolható 20-féle aminosav). Mivel $4^3 = 64$-féle trinukleotid létezik, a probléma megoldására szolgáló elméleti probálkozások során feltételezték, hogy a 64 közül csak 20-féle hármas kódolhat aminosavat, csak 20-féle „értelmes" hármas létezik. Ezek kiválasztására első lépésként GAMOW [2] feltételezte, hogy a kódban a bázisok sorrendje nem játszik szerepet, hanem csakis a hármas bázis összetétele. Összetétel szerint viszont éppen 20-féle hármas létezik. Mivel a GAMOW-féle összetétel szerinti séma, amely nem vette tekintetbe a bázisok sorrendjét, nem jelentett információelméleti szempontból valódi kódot, CRICK és munkatársai [3] az úgynevezett vessző nélküli kód problémájának megoldásával választottak ki 20 hármast a 64 közül (itt már a bázisok sorrendjét is figyelembe vették).

Megemlítendő, hogy a DNS elektronszerkezetének kvantummechanikai vizsgálatára idehaza folytatott számítások eredményei alapján is ki lehetett választani 20 hármast a 64 közül. A számítások szerint a DNS egymás felett levő bázisai között el nem hanyagolható π-elektron átfedés áll fenn [4]. Két egymás felett levő bázist ezért egységes rendszernek tekintve a számításokból az adódott [5], hogy az egymás felett levő bázisok között akkor a legnagyobb a kölcsönhatás, ha 1. minél több azonos fajta bázis helyezkedik egymás felett és ha 2. azt az esetet kizárjuk, amikor egy pirimidin-típusú bázis (T vagy C) helyezkedik el egy purin-típusú bázis (A vagy G) alatt[1] (ilyenkor kicsi az átfedés, illetve a kölcsönhatás [4, 5].) Meg lehetett mutatni, hogy a fenti két kritérium következetes alkalmazásával éppen 20 hármas választható ki a 64 közül [6]. Megjegyzendő azonban, hogy az újabban végzett részletes kísérleti vizsgálatok eredményei egyik elméletileg konstruált kódolási séma helyességét sem támasztották alá.

Az RNS→F kód jellegének megállapítását célzó kísérleti vizsgálatok közül elsőnek CRICK és munkatársainak [7] eredményei említendők meg, akik T_4 bakteriofág mutánsain végeztek igen alapos genetikai vizsgálatokat. Megállapították, hogy a kód 1. fix kezdőponttól kezdve olvasandó (ezzel a vesszők problémája elesik), 2. a kód nem átfedő, 3. a kód degenerált (1 aminosavat többféle bázis-szekvencia kódolhat) és 4. 1 aminosavat 3n RNS-beli bázis kódolhat, ahol az n egész szám értéke nagy valószínűséggel 1. WITTMANN [8] dohánymozaik-vírus (TMV) HNO_2-vel mesterségesen előidézett mutánsainak[2] fehérjeösszetételeit vizsgálva is arra az eredményre jutott, hogy 1. a kód nem átfedő és 2. degenerált.

[1] A jobbmenetes DNS spirálisokban definiálható egy haladási irány.

[2] A HNO_2 a nukleotid-bázisok amino-csoportjait = O csoportokká alakítja át. Ilyen módon a C → U, A → hipoxantin (ez utóbbi a kódban G-ként viselkedik) változásokat idézi elő a kódban. (A HNO_2 a G-t xantinné alakítja át, de az utóbbi kódolási szempontból ismét a G-vel egyenértékű).

A kód kísérleti vizsgálatában lényeges lépést jelentett előre NIRENBERG és MATTHAEI [9] felfedezése, akik észrevették, hogy sejtmentes *Escherichia coli* rendszerben a mesterségesen előállított poli U (poliuridilsav) polifenilalanin szintézisét teszi lehetővé. Így a fenilalaninhez az UUU hármas volt hozzárendelhető. Ezután egyrészt OCHOA és munkatársai, másrészt NIRENBERG és munkatársai különböző ismert összetételű[3] poliribonukleotideket állítva elő ismét sejtmentes *Escherichia coli* rendszerben vizsgálták, hogy ezek hatására milyen aminosavak épülnek be a fehérjébe. Eredményeik alapján [10, 11] minden aminosavhoz legalább egy, a legtöbb esetben azonban több trinukleotidet rendeltek hozzá. Ilyen módon közvetlen bizonyíték adódott a kód degeneráltságára. A megfelelő aminosav-trinukleotid korrelációkat az I. táblázat foglalja össze, amelyet OCHOA egy összefoglaló dolgozatából [10] vettünk át.

1. táblázat

Aminosav kód triplettek [10]

Aminosav	U-triplett	Nem-U-triplett
Ala.	U, C, G	A, C, G; C, C, G
Arg.	U, C, G	A, A, G; C, C, G
Aszp. N.	A, A, U; A, U, C	A, A, C
Aszp.	A, U, G	A, C, G
Cisz.	U, U, G	—
Glut.	A, U, G	A, A, G
Glut. N.	—	A, G, G; A, A, C
Gli.	U, G, G	A, G, G; C, G, G
Hisz.	A, U, C	A, C, C
Ile.	A, U, U; A, A, U	—
Leu.	A, U, U; U, U, C; U, U, G	—
Liz.	A, A, U	A A A
Met.	A, U, G	—
Fen.	U U U	—
Pro.	U, C, C	C C C; C, C, A
Szer.	U, U, C	A, C, G
Tr.	A, U, C	A, A, C; C, C, G
Tri.	U, G, G	—
Tir.	A U, U	—
Val.	U, U, G	—

A táblázat második oszlopa az U-tartalmú (a vizsgálatokat U-tartalmú poliribonukleotidekkel kezdték), a harmadik U-t nem tartalmazó tripletteket ad meg. Az egyes triplettek csak összetételeket jelentenek, de nem adják meg a három bázis sorrendjét a tripletten belül.

Az *Escherichia coli* rendszeren kívül több más rendszeren (például sejtmentes patkány máj rendszer) is végeztek vizsgálatokat szintetikus poliribo-

[3] A poliribonukleotidek előállításánál ismert bázisösszetételű elegyekből indultak ki, s megállapítható volt, hogy a megfelelő polimerek bázisösszetétele igen hasonló a kiindulási elegy összetételéhez [10].

nukleotidekkel. Az egyes aminosav-kód-triplettekre ugyanazok az eredmények adódtak, mint az *Esch. coli* rendszer esetén [10]. Ezért igen valószínű, hogy a kód általános.

A bázisoknak az egyes trinukleotideken (kodonokon) belüli sorrendjének megállapítására is széles körű kísérleti vizsgálatok folynak. Egyrészt YANOFSKI és munkatársai [12] különböző *Esch. coli* mutánsok esetén vizsgálták a triptofán szintetáz A-fehérjének aminosav-összetételét.

Ismerve az egyes aminosavaknak megfelelő kodonok összetételét és valamelyik aminosavra egy meghatározott sorrendet tételezve fel, a mutációk következtében a fehérjében fellépő új aminosavakra vizsgálataik alapján már sorrendet is meg tudtak adni. Hasonló eredményekre vezettek WITTMANNnak [8] már említett, TMV-n HNO_2-vel mesterségesen előidézett mutánsok fehérjeösszetételeire vonatkozó vizsgálatai is.

Az ily módon kapott relatív szekvenciák abszolúttá tehetők, ha néhány aminosav kodonjának közvetlenül sikerül meghatározni a szekvenciáját. Ezt végezték el LEDER és NIRENBERG [13, 14], akik szintetikus di- és trinukleotideket adtak sejtmentes *Esch. coli* rendszerhez és C^{14}-gyel jelzett aminoacil-s-RNS molekulák kapcsolódását a riboszómához radioaktív indikáció segítségével mérték. Azt találták, hogy dinukleotidek esetén s-RNS nem kötődött a riboszómákhoz, míg trinukleotidek esetén igen (közvetlen bizonyíték a triplett kódra !). Eredményeik szerint a leucinhoz az UUG, a ciszteinhez az UGU és valinhoz a GUU szekvencia tartozik. Ezeket felhasználva a YANOFSKI [12]-, illetve WITTMANN [8]-féle relatív szekvenciák abszolúttá tételére LEDER és NIRENBERG 11 aminosavra megadják a kodonokon belül a bázisok sorrendjét is [14]. Ezt mutatja be a II. táblázat. A táblázatban zárójelben levő bázisok sorrendje még nem ismeretes.

Az elmondottak alapján remélhető, hogy a kombinált genetikai és biokémiai munka eredményeként néhány éven belül az egész RNS→F kód megfejtése elkészül. A kód stabilitásával kapcsolatban azonban újabban kételyek merültek fel amiatt, mert kiderült, hogy a hőmérséklet és a Mg^{++} ionok koncentrációja (valamint egyes polikationok, például spermin, spermidin) befolyásolják az egyes poliribonukleotideknek a megfelelő aminosavak beépülését stimuláló hatását [15]. Ez a jelenség jól látható a poli U aminosav beépülést stimuláló hatására vonatkozó III. táblázatból, amelyet FRIEDMAN és WEINSTEIN dolgozatából [15] vettünk át.

A táblázatból látható, hogy a hőmérséklet és a Mg^{++} ionok koncentrációja döntő befolyást gyakorol arra, hogy az UUU kodon milyen mértékben stimulálja a kétféle aminosav beépülését. A közölt adatok egyúttal igen tanulságosak az úgynevezett fordított degeneráltság (egy trinukleotid többféle aminosavat kódolhat) problémája szempontjából is. Megemlítendő, hogy az UUU kodon fordított degeneráltságát más rendszereknél is észlelték [9, 16]. Mindezekből látható, hogy az RNS→F kód csak az *in vivo* körülményeknek

2. táblázat

Kodonok bázis-sorrendjei [14]

Aminosav	Szekvencia
Leu.	UUG
Cisz.	UGU
Val.	GUU
Ile.	AUU A(UA)
Tir.	UAU
Al.	GCC G(CA) G(CU)
Glu.	GAA GAU
Gli.	GGU GGC GGA
Arg.	AGA CGC (A)G(C)
Tre.	ACA
Aszp.	G(CA)

megfelelő *in vitro* körülmények között végzett kísérletek alapján határozható meg megbízhatóan. A kismértékben mindig fellépő fordított degeneráltság miatt továbbá a kód mindig csak statisztikus értelemben tekinthető helyt-

3. táblázat

Hőmérséklet és Mg^{++} ion koncentráció hatása a fenil-alanin-leucin beépülés viszonyára. *Bacillus stearothermophilus* sejtmentes in vitro rendszerben [15]

Hőmérséklet (C°)	Mg^{++} (M)	Nettó stimulálás ($\mu\mu$ mólban) poli U hatására		
		Fen.	Leu.	Leu./Fen. %
65	0,010	42	4	10
	0,018	61	10	16
37	0,006	116	3	3
	0,010	170	56	32
	0,018	74	87	118

állónak. Mivel azonban az egyes fehérjék aminosav-szekvenciájának csak tört része döntő fontosságú az illető fehérje katalitikus tulajdonságai szempontjából, valószínű, hogy a kód statisztikus jellege következtében fellépő hibák nem befolyásolják nagyobb mértékben a különböző fehérjék funkcióit, s ezzel a sejt normális működését.

A fehérjeszintézis kódolásának természetesen a kód megfejtésén kívül is vannak még megoldatlan problémái. Így nem ismeretes, hogy 1. az egyes sejtek milyen szabályozó rendszerrel biztosítják a kód stabilitását, hogy 2. az egyes aminosavra specifikus enzimek hogyan választják ki a megfelelő aminosavat, és hogy 3. mi biztosítja ennek a specifikus enzimnek a specifikus s-RNS-hez való kötődését. Továbbá nem tisztázott az sem, hogy a DNS→RNS lépésnél a DNS mely pontjain kezdődik az egyes RNS molekulák szintézise (a DNS több nagyságrenddel több nukleotid bázist tartalmaz, mint a küldönc RNS-molekulák).

Az utóbbi probléma szoros kapcsolatban áll a sejtdifferenciálódás kérdésével. Ismeretes ugyanis, hogy a magasabbrendű organizmusok sejtjei DNS-molekuláiban felhalmozott teljes információmennyisége (I) sokszorosa annak az információmennyiségnek ($\mathscr{I}$), ami az illető sejt összes fehérjemolekuláinak meghatározásához szükséges. A nukleoproteinekben levő hiszton és más még nem ismert szabályozó mechanizmusok határozzák meg azt, hogy az egyed minden sejtjében jelenlevő teljes I információ melyik $\mathscr{I}$ részét használja fel egy sejt az RNS, illetve fehérjemolekulák kódolására. A ténylegesen felhasznált $\mathscr{I}$ információ szabja meg tehát azt, hogy milyen fajta sejt jön létre az egyeden belül.

A probléma megfogalmazható Neumann Jánosnak az önreprodukáló, és maguknál bonyolultabb automatát konstruáló automaták elméletére vonatkozó nevezetes meggondolásai analógiájára is. Neumann ugyanis Turing meggondolásai alapján megmutatta, hogy ha egy kritikus bonyolultságnál nagyobb bonyolultságú A automatának megfelelő I információt (utasítás-rendszert) adunk, az önreprodukcióra lesz képes (természetesen feltételezve, hogy az új automata konstrukciójához szükséges alkatrészek az automata rendelkezésére állnak),

$$A(\mathscr{I}) \rightarrow A(\mathscr{I}). \tag{1}$$

Ugyanakkor, ha A-nak $\mathscr{I}$-től eltérő $\mathscr{I}'$ információt adunk, új, A-tól eltérő (A'), s esetleg annál bonyolultabb automata is létrejöhet:

$$A(\mathscr{I}') \rightarrow A'(\mathscr{I}''), \tag{2}$$

ahol $\mathscr{I}'' = \mathscr{I}'$, vagy $\mathscr{I}'' \neq \mathscr{I}'$. A-nak a megtermékenyített petesejtet, I-nek a benne levő DNS-molekulák együttes információtartalmát, $\mathscr{I}$-nak pedig a petesejt önreprodukciójához szükséges információtartalmat feleltetve meg, írhatjuk

$$A\,(I, \mathscr{J}) \rightarrow A\,(I, \mathscr{J}) \text{ (önreprodukció)}, \tag{3}$$

$$A\,(I, \mathscr{J}) \rightarrow A\,(I, \mathscr{J}') \rightarrow A'(I, \mathscr{J}'') \text{ (sejtdifferenciálódás)} \quad \mathscr{J}'' = \mathscr{J}' \text{ vagy } \mathscr{J}'' \neq \mathscr{J}', \tag{4}$$

$$A'\,(I, \mathscr{J}'') \rightarrow A'(I, \mathscr{J}'') \text{ (differenciálódott sejt önreprodukciója)}, \tag{5}$$

$$A'\,(I, \mathscr{J}'') \rightarrow A'(I, \mathscr{J}''') \rightarrow A''(I, \mathscr{J}'''') \text{ (további sejtdifferenciálódás)} \tag{6}$$

és így tovább ($\mathscr{J}, \mathscr{J}', \mathscr{J}'', \mathscr{J}''', \mathscr{J}'''', \ldots \in$ I). A létrejövő különböző A, A', A'', ... stb. automaták, illetve az őket meghatározó $\mathscr{J}, \mathscr{J}', \mathscr{J}''$, ... stb. felhasznált információk éppen olyanok, hogy egy $\mathscr{A}$ {A, A', A'', ...} szuperautomatát (a szervezetet) hozzák létre, amely szintén új automaták (szervezetek) konstruálására képes.

A fehérjék aminosav szekvenciáinak meghatározása alapján az RNS → F kód megoldása után meg lehet majd határozni a küldönc RNS, illetve nagyobb DNS-szakaszok bázissorrendjét is. Ily módon a DNS bázisai szekvenciameghatározásának technikai okokból igen nehéznek látszó problémája megkerülhető lesz. Ismerve nagyobb DNS-szakaszok bázis-szekvenciáit ezekhez meghatározott tulajdonságok lesznek majd rendelhetők. Mindezek alapján gondolni lehet majd arra is, hogy a DNS bázis-szekvenciájának megfelelő megváltoztatásával tudatosan lehet majd befolyásolni az élő egyedek tulajdonságait.

Hálás köszönetet szeretnék mondani Dr. Straub F. Brunó akadémikusnak, aki fontos irodalmi adatokra hívta fel a figyelmemet.

IRODALOM

1. A. Rich,: Ann. N. Y. Ac. Sci., **81,** 709 (1959)
2. G. Gamow: Dansk. Biol. Med., **3,** 22 (1954)
3. F. H. C. Crick, J. S. Griffith és L. E. Orgel,: Proc. Natl. Ac. Sci. U. S., **43,** 416 (1957)
4. J. Ladik,: Acta Phys. Hung., **11,** 239 (1960)
5. T. A. Hoffmann és J. Ladik,: Adv. Chem. Phys., **7,** 84 (1964)
6. J. Ladik,: Acta Phys. Hung., **13,** 473 (1961)
7. F. H. C. Crick, L. Barnett, S. Brenner és R. J. Watts-Tobins,: Nature, **190,** 1227 (1961)
8. H. G. Wittmann,: Informational Macromolecules-ben, szerkesztették: H. J. Vogel, V. Bryson és J. O. Lampen, Academic Press, New York—London, 1963. 177 o.
9. M. W. Nirenberg és J. H. Matthaei,: Proc. Natl. Ac. Sci. U. S. **47,** 1588 (1961)
10. Lásd pl.: S. Ochoa,: Informational Macromolecules-ban, szerkesztették: H. J. Vogel, V. Bryson és J. O. Lampen, Academic Press, New York—London, 1963. 437 o. és az ott közölt további hivatkozások.
11. M. W. Nirenberg és O. W. Jones, Jr.: Informational Macromolecules-ban, szerkesztették: H. J. Vogel, V. Bryson és J. O. Lampen, Academic Press, New York—London, 1963. 451 o. és az ott közölt további hivatkozások.
12. C. Yanofski,: Informational Macromolecules-ben, szerkesztették: H. J. Vogel, V. Bryson és J. O. Lampen, Academic Press, New York—London, 1963. 195 o. és az ott közölt további hivatkozások.
13. P. Leder és M. W. Nirenberg,: Proc. Nat. Ac. Sci. U. S., **52,** 420 (1964)
14. P. Leder és M. W. Nirenberg,: Proc. Nat. Ac. Sci. U. S., **52,** 1511 (1964)
15. M. Friedmann és J. B. Weinstein,: Proc. Nat. Ac. Sci. U. S., **52,** 988 (1964)
16. M. S. Bretscher és M. Grunberg-Manago,: Nature, **195,** 283 (1962)

GLOBULÁRIS FEHÉRJÉK SZERKEZETFENNTARTÓ ERŐINEK KOOPERATÍV EGYÜTTMŰKÖDÉSE

ELŐDI PÁL

MTA Biokémiai Intézete, Budapest

A biológiai makromolekulák szerkezeti felépítése, szerkezetfenntartó erőinek mineműsége évtizedek óta egyik centrális problémája a biológia különböző területein vizsgálódó kutatóknak. Egyelőre úgy látszik, hogy még jó ideig az is marad. Talán még azt is mondhatjuk, hogy a kutatások kiszélesedésével a kérdés mind több és több aspektusban merül fel és ez a körülmény nem hogy csökkenti, de egyre inkább növeli a megoldandó problémák számát.

A természettudományos kutatás sajátos fejlődése következtében egyes módszerek vagy elméleti meggondolások pillanatnyi előtérbe kerülése következtében, adott időben jellemző, hogy aránylag nagyszámú vizsgálat folyik meghatározott kérdésekkel összefüggésben, nagyjából hasonló módszertani megoldások felhasználásával.

A fehérjék szerkezetvizsgálatában ez úgy érvényesült, hogy az elmúlt évtizedekben igen nagy jelentőséget tulajdonítottak a polipeptid láncban kialakuló spirális szerkezetnek, az α-hélixnek és fenntartásában elsődlegesnek tekintették a peptid vázban kialakuló hidrogén kötéseket.

Ma az a helyzet, hogy mindkét elképzelés fénye, mind az α-hélix obligát jelenléte, mind pedig a peptid hidrogén kötések szerkezet stabilizáló jelentősége valamelyest megkopott. Ez nem azt jelenti, hogy az állásfoglalás gyökeresen változott meg és e két struktúrelem létezését elvetik.

A fehérjék szerkezeti felépítésének stabilizálásában a következő kapcsolatok kialakulását vehetjük számításba:

I. táblázat

Globuláris fehérjék térszerkezetét stabilizáló erők

1. Diszulfid hidak
2. Elektrovalens kötések
3. Hidrogénkötések
4. Hidrofób erők
5. Specifikus hatások

Napjainkban különösen a hidrofób szerkezeti tényezők vannak az érdeklődés előterében. Jelentős ez, mert aránylag hosszú időn keresztül eléggé kilátás-

talannak látszott, hogy a kémiailag inert, lényegében szénhidrogénekből felépülő oldallánc csoport sajátságait és szerepét valamilyen módon megközelítsék. Tanulmányozásukra új, a főként kémiai típusú szerkezetvizsgálatokban eddig még nem alkalmazott módszereket kellett felhasználni.

A vizsgálatok eredményeképpen ma nagyjából a következőket tudjuk:

1. A hidrofób, vagy helyesebben apoláros oldalláncok gyakorlatilag kivétel nélkül a globuláris fehérjemolekula centrális, központi részén helyezkednek el, annak belsejében hidrofób magot vagy cseppet alkotva. Ily módon válnak olyan szerkezeti erővé, amely nagymértékben elősegíti, kényszeríti, hogy a polipeptid lánc csepp vagy gömbszerű háromdimenziós szerkezetet vegyen fel.

2. A helikális szerkezet kialakulására — termodinamikai és kémiai meggondolások alapján egyaránt — a molekula hidrofób régióiban nagyobb a valószínűség. Itt ugyanis, a víz aktivitásának csökkenése következtében a hidrogén kötések kialakulása szekunder folyamatnak tekinthető, melynek lehetőségeit valójában a hidrofób erők kialakulása teremti meg. Hogy melyik valójában az elsődleges és melyik a másodlagos, az mindeddig még nem eldöntött kérdés.

A hidrofób szerkezeti elemek jelentőségére a fehérjékben már a negyvenes évek közepén Talmud és Bresler hívták fel a figyelmet, sokoldalú tanulmányozásuk azonban mindössze néhány éve indult meg. Első lépésként inkább modelleket, egyszerű molekulák sajátságait vizsgálták és ezekből igyekeztek következtetni a polipeptid láncban levő analóg szerkezeti elemek energetikai, termodinamikai sajátságaira. Kétségtelen, hogy a modelleken nyert tapasztalatok nélkülözhetetlenek, de ezek távol állnak attól, hogy a polipeptid láncra adekvát módon érvényesnek tekintsük.

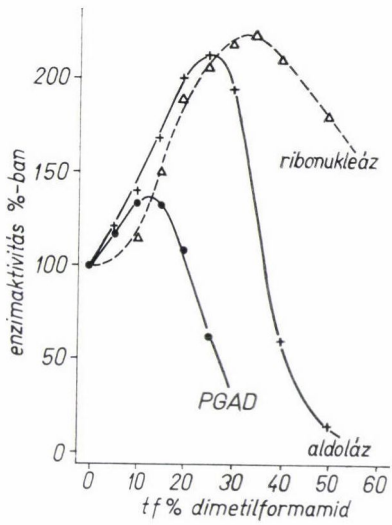
Saját megfigyeléseinket illetően a kérdéscsoport néhány problémáját a következőkben foglalhatjuk össze:

1. A közeg polaritása sok tekintetben meghatározza a fehérje viselkedését. Több esetben tapasztaltuk, hogy a polaritás csökkenése a többi között az enzim aktivitás növekedésével jár. Ezt a jelenséget egyaránt tapasztaltuk gliceraldehid-3-foszfát dehidrogenáz, aldoláz és ribonukleáz esetében (l. 1. ábra).

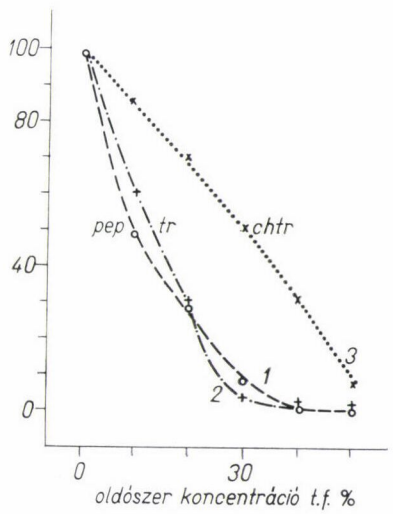
Ez az effektus többé-kevésbé jól definiálható szerkezeti változásokkal jár együtt, melyeknek lényege az, hogy a kevésbé poláros oldószer jelenlétében a fehérjemolekula duzzad. Hasonló közeg a proteolitikus enzimek esetében éppen ellenkező irányban befolyásolja a biológiai aktivitást, a proteolitikus működést csökkenti (2. ábra).

2. A molekula térfogatának nem bármilyen növekedése hat előnyösen. Detergens vagy urea, melyek látszólag azonosan befolyásolják a vizsgált fehérjék szerkezeti sajátságait, támadáspontjuk, hatásuk mechanizmusa tekintetében egymástól lényegesen különböznek.

3. A hidrofób területek méreteit illetően d-gliceraldehid-3-foszfát és a



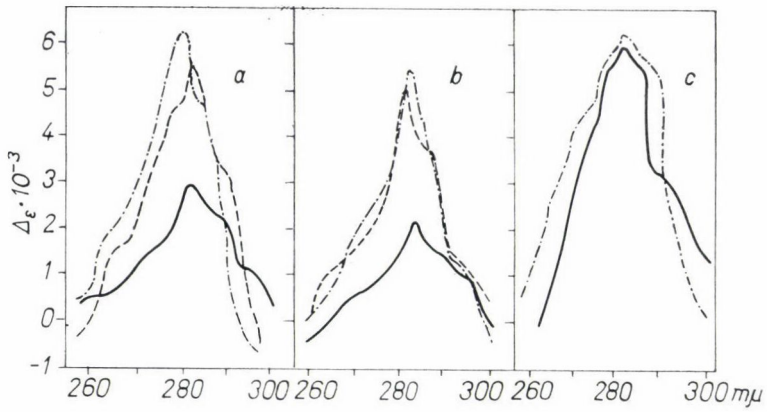
1. ábra. Apoláros oldószer (dimetilformamid) hatása enzimek aktivitására az eredeti aktivitás százalékában. PGAD: gliceraldehid-3-foszfát dehidrogenáz



2. ábra. Dimetilformamid hatása proteolitikus enzimek működésére denaturált fehérje-szubsztrát jelenlétében. pep: pepszin, tr: tripszin, chtr: chimotripszin

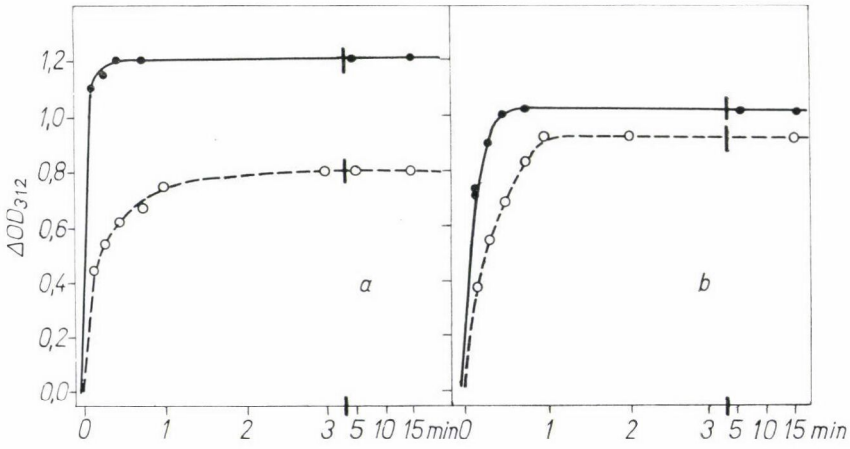
tejsav dehidrogenázzal azt tapasztaltuk, hogy a tanulmányozott globuláris fehérjék szerkezetében az alkalmazott reagensekkel szemben a fehérjék úgy viselkedtek, mintha réteges szerkezetűek lennének.

Az ún. *oldószer perturbációs* eljárás segítségével arra az eredményre jutottunk, hogy a legkisebb méretű alkalmazható perturbáló ágens, az etilén-



3. *ábra.* Oldószer perturbációs differenciaspektrumok 20% etilénglikol jelenlétében — (etilénglikolmentes oldatokkal szemben)

a = gliceraldehid-3-foszfát dehidrogenáz
b = tejsav dehidrogenáz
c = aminosav elegy (tirozin és triptofán), az *a*-nak megfelelő mennyiségi összetételben
———— natív fehérjék, pH 7,5 pufferben
— — — — savval denaturált (pH 2 glicin pufferben)
— · — · — 6 M urea jelenlétében, pH 2

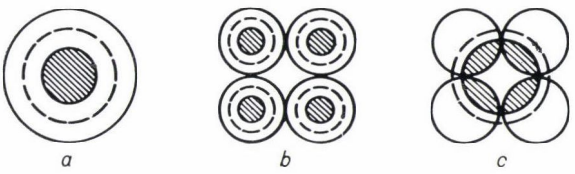


4. *ábra.* Dijódtirozin keletkezése jódozás hatására (*a* és *b* mint a 3. ábrán)
— —O— —O— — pH 9,2 glicin pufferben
— · ———— · — előzetesen 6M ureában inkubálva

glikol a molekulában levő aromás kromoforoknak csak 45—55%-ával érintkezhet natív állapotban, míg denaturáció után ez az érintkezés teljes (3. ábra).

Eszerint az aromás kromoforoknak kb. fele inakcesszibilis, a molekula belsejében elhelyezkedő rétegben van.

A tirozinok jódozása alapján kiderült, hogy előzetes szerkezetroncsolás nélkül a tirozinoknak 70—80%-a reagál és a maradék 30—20% csak a szerkezet szétroncsolása után (4. ábra). Ebből a következő közelítő modellt alakíthatjuk ki (5. ábra):



5. ábra. Globuláris fehérjék szerkezeti sémája a reagensekkel szemben való viselkedés alapján. A külső réteg (hidrofil) átjárható, a belső sraffozott (hidrofób) réteg nem átjárható, a kettő között szaggatott vonallal jelölt átmeneti réteg. (*a*). a *b* és *c* modellek e rétegek lehetséges elrendezését tünteti fel alegységekből felépülő globuláris molekulák esetére

Bizonyos, hogy a molekulák legbenső tere legalább az össztérfogat 30, ill. 20%-a, a külső hidrofil réteg pedig durván 45—55%-a a molekulák térfogatának. (A hidrofil-hidrofób részek fenti aránya elég jól egyezik, ha a számításokat Fischer módszerével végezzük el, mely az aminosavösszetételt veszi figyelembe.)

Igen valószínű, hogy még a viszonylag gyenge hidrofób erőknek is elég jelentős szerep jut a globuláris molekula nagyjából szférikus szimmetriájának megszabásában és a kompakt szerkezet fenntartásában.

Ha korábbi vizsgálataink alapján összefoglaljuk, mely szerkezeti tényezők módosítása vezet a szférikus szimmetria és a kompakt szerkezet, természetszerűleg a biológiai aktivitás megszűnéséhez, a következőket mondhatjuk (l. II. tábl.):

II. táblázat

D-gliceraldehid-3-foszfát dehidrogenáz szerkezetének felbomlását okozó hatások

1. Kötött koenzim eltávolítása, szobahőn
2. Az összes szulfhidril csoportok blokkolása
3. Extrém pH (5> pH>9)
4. 37 C° feletti hőmérséklet
5. Urea, 3 M konc. felett
6. Szerves oldószerek, 10%-nál nagyobb konc.
7. Ionos detergens

Ily módon gliceraldehid-3-foszfát dehidrogenáz esetében a fenti vizsgált hatások bármelyike gyakorlatilag a szerkezet egészének összeomlását okozhatja. Nem mondhatjuk viszont, hogy a kérdéses szerkezetfenntartó erő egymagában stabilizálta a szerkezetet.

A tapasztalatok és jó néhány irodalmi adat figyelembevételével azt mondhatjuk, hogy a globuláris fehérjék jó része esetében biológiailag aktív szerkezetének fenntartásában a felsorolt erők együttesen, kooperatíve együttműködve, egymást kiegészítve vesznek részt. Ha ebből az együttesből bármelyik valamilyen hatás folytán kiesik, ezt a szerkezet egésze sínyli meg. Fokozottan érvényesnek látszik ez a megállapítás olyan fehérjékre, melyek nem tartalmaznak diszulfid keresztkötéseket.

RIBOZÓMA-HELIXEK

RÖHLICH PÁL, TÖRÖK LÁSZLÓ és OLÁH IMRE

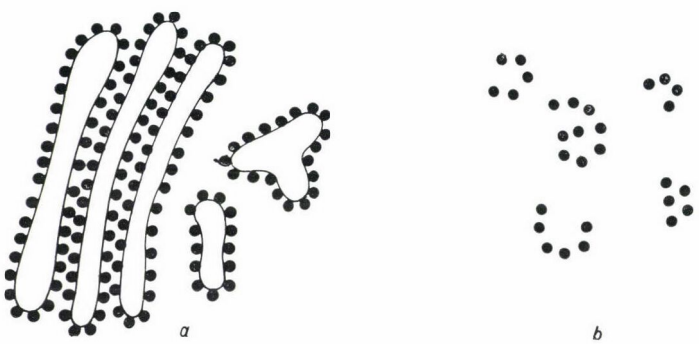
Budapesti Orvostudományi Egyetem Szövet- és Fejlődéstani Intézete

A modern biokémia egyik legjelentősebb felfedezése a fehérjeszintézis mechanizmusának a feltárása volt. Ennek során bebizonyosodott, hogy a fehérjeszintézisben az RNS játssza a döntő szerepet, amely felelős a fehérje specifitását meghatározó aminosav-szekvencia kialakításáért. Az RNS az aminosav-szekvenciát a különböző bázisok egymásutániságával határozza meg, ezt az információt viszont a DNS-től veszi át. További lépés volt az RNS különböző típusainak: a messenger, a riboszómális és az oldható RNS-nek szétválasztása és azok funkciójának tisztázása.

A fehérjeszintézis biokémiai vizsgálatával párhuzamosan egy másik, morfológiai jellegű irányzat a fehérjeszintézis morfológiai szubsztrátumát kutatta. A legkorábbi megfigyelés még a múlt század második felére nyúlik vissza, amikor Garnier leírta, hogy a fehérjét termelő mirigysejtek citoplazmája jellegzetesen bazofil festődésű. Ezt a bazofil citoplazmát ergasztoplazmának nevezte el. Később Brachet ribonukleáz-emésztéssel, Caspersson pedig uv-adszorpcióval mutatta ki, hogy az ergasztoplazma nagy mennyiségű RNS-t tartalmaz. Az RNS láthatóvá tételét végül az elektronmikroszkóp tette lehetővé. 1953-ban Palade írta le azokat a kb. 150 Å nagyságú, tömött szerkezetű szemcséket, melyekről később bebizonyította ribonukleáz-emésztéssel, hogy ribonukleoproteinből (riboszómák) állanak. A riboszómák a fehérjét szecernáló sejtekben az endoplazmás retikulum ciszternáinak membránjaihoz asszociálódnak. Az ergasztoplazma fogalma alatt sokáig ezt a típusos, a vakuoláris rendszerhez kötődő riboszómális struktúrát értették. (1a ábra). Bebizonyosodott azonban, hogy riboszómák szabadon, membránoktól függetlenül is előfordulnak, elsősorban a differenciálódó, saját fehérjéjüket építő sejtekben. Már korán megfigyelték, hogy az ilyen ún. „szabad" riboszómák gyakran alkotnak 4—5-ös csoportokat, ún. rozettákat, begörbülő sorokat, melyek gyakran azt a benyomást keltik, mintha a riboszómák valamilyen láthatatlan vonal mentén rendeződnének. (1b ábra).

Igen jól egybevág ezekkel a megfigyelésekkel a molekuláris biológia utóbbi két év alatt kialakult poliriboszóma-koncepciója. WARNER, RICH és HALL (1962) figyelte meg először differenciálcentrifugálásos és izotópos mód-

szer alapján, hogy a hemoglobint szintetizáló retikulocitákban nem az egyedülálló riboszómák, hanem a riboszómák 4—5—6-os csoportjai, az ún. poliriboszómák a legaktívabbak, ezekben a csoportokban a legintenzívebb a jelzett aminosavak beépítése. Ezek a poliriboszómák már igen gyenge ribonukleáz-emésztésre is egyedi riboszómákra esnek szét, ami azt mutatja, hogy a riboszómákat RNS köti össze. Ezt egyébként elektronmikroszkóposan is sikerült láthatóvá tenni, kb. 10 Å vastag fonal alakjában, mely méretei alapján csak egy egyszerű RNS-láncnak (messenger RNS) felelhet meg (SLAYTER, WARNER, RICH és HALL 1963). Ezt mutatja az is, hogy szintetikus messenger-



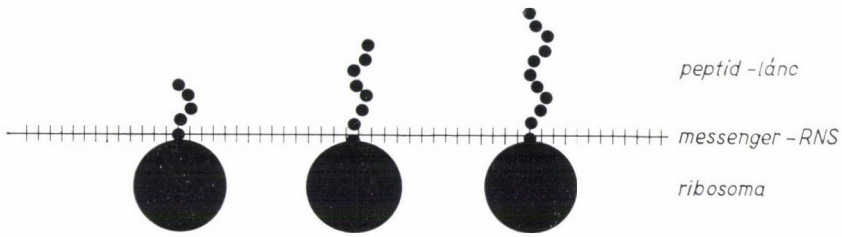
1. ábra. Riboszómák elhelyezkedése a citoplazmában. *a)* Membránhoz kötött riboszómák *b)* szabad riboszómák, melyek gyakran „rozettákat", begörbülő sorokat alkotnak

rel, pl. poliuridilsavval, az egyedi riboszómák poliriboszómákat hoznak létre. Kiterjedt vizsgálatok bebizonyították, hogy a poliriboszómális fehérjeképzés általánosan előfordul. Ma tehát a fehérjeszintézis mechanizmusát a következő séma alapján (GIERER 1963) képzeljük el: (2. ábra) a messenger-RNS azon végéhez, mely a fehérje N-terminális aminosavát kódolja, hozzákötődik a riboszóma. Ez végigvándorol az RNS-láncon, miközben az RNS kódolása alapján az aminosavakból felépíti a peptidláncot. Mire a messenger-RNS másik végéhez ér, felépítette a fehérjét, mely leválik a riboszómáról és maga a riboszóma is felszabadul az RNS-láncról. A poliriboszóma felfogás alapján egy messenger-RNS-en több riboszóma is dolgozik, mely tehát igen gazdaságos a messenger-RNS-re nézve.

Magunk a riboszómák problémáját morfológiai oldalról közelítettük meg. Már 1961-ben megfigyeltük a csigaszem pigmentsejtjeinek ergasztoplazmáján (RÖHLICH és TÖRÖK 1962), hogy az ún. szabad riboszómák nem mindig kerek szemcsék, hanem igen gyakran ferdén elnyúltak, vagy pedig fonalszerűek, amikor jellegzetes zegzugos vonalban futnak le. Ezek alapján arra gondoltunk, hogy az ergasztoplazma ribonukleoprotein elemei sokszor csavarmenetszerű fonal alakjában rendeződnek. Érdekes megjegyezni, hogy STRUGGER és WEISSENFELS már 1956-ban, ill. 1957-ben leírt ilyen helikális stuktúrákat

növényi és állati sejteken, de azokat nem hozták összefüggésbe az ergasztoplazmával. Megfigyeléseik nem keltettek visszhangot és rövidesen feledésbe merültek. Első megfigyelésünk óta 1963-ban (BEHNKE, WADDINGTON és PERRY) két és 1965-ben (CEDERGREN és HARARY, ECHLIN) ismét két rövid cikk jelent meg, melyben hasonló helikális riboszómális struktúrákat írnak le differenciálódó izom- és bélhámsejteken, valamint növényi pollen anyasejteken. A következőkben saját vizsgálataink és részben más szerzők megfigyelései alapján megkíséreljük összefoglalni az ergasztoplazma helikális elemeinek a problémáját.

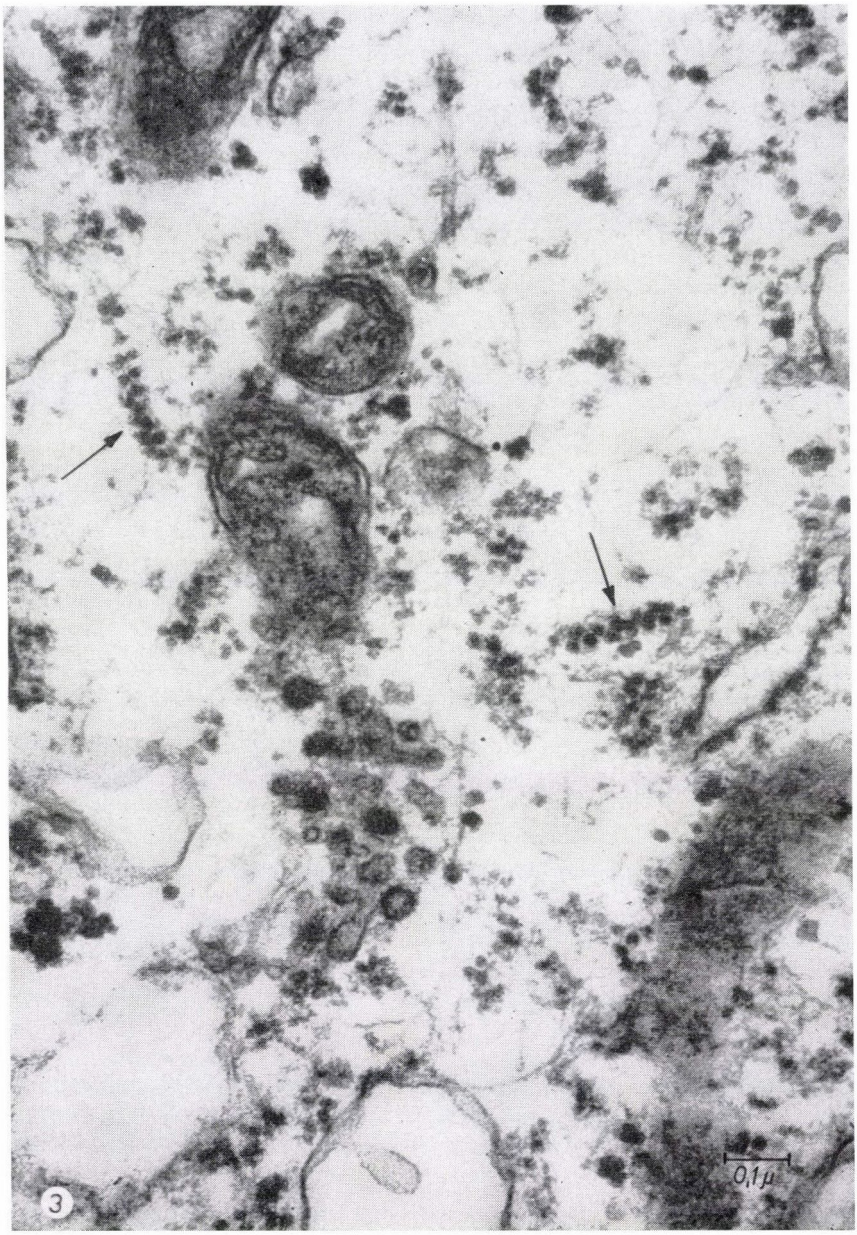
A bemutatott képek (3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10. ábra) túlnyomórészt korai (5 napos) csirkeembrió ősszelvényeinek myoblast-sejtjeiből származnak. A kép-



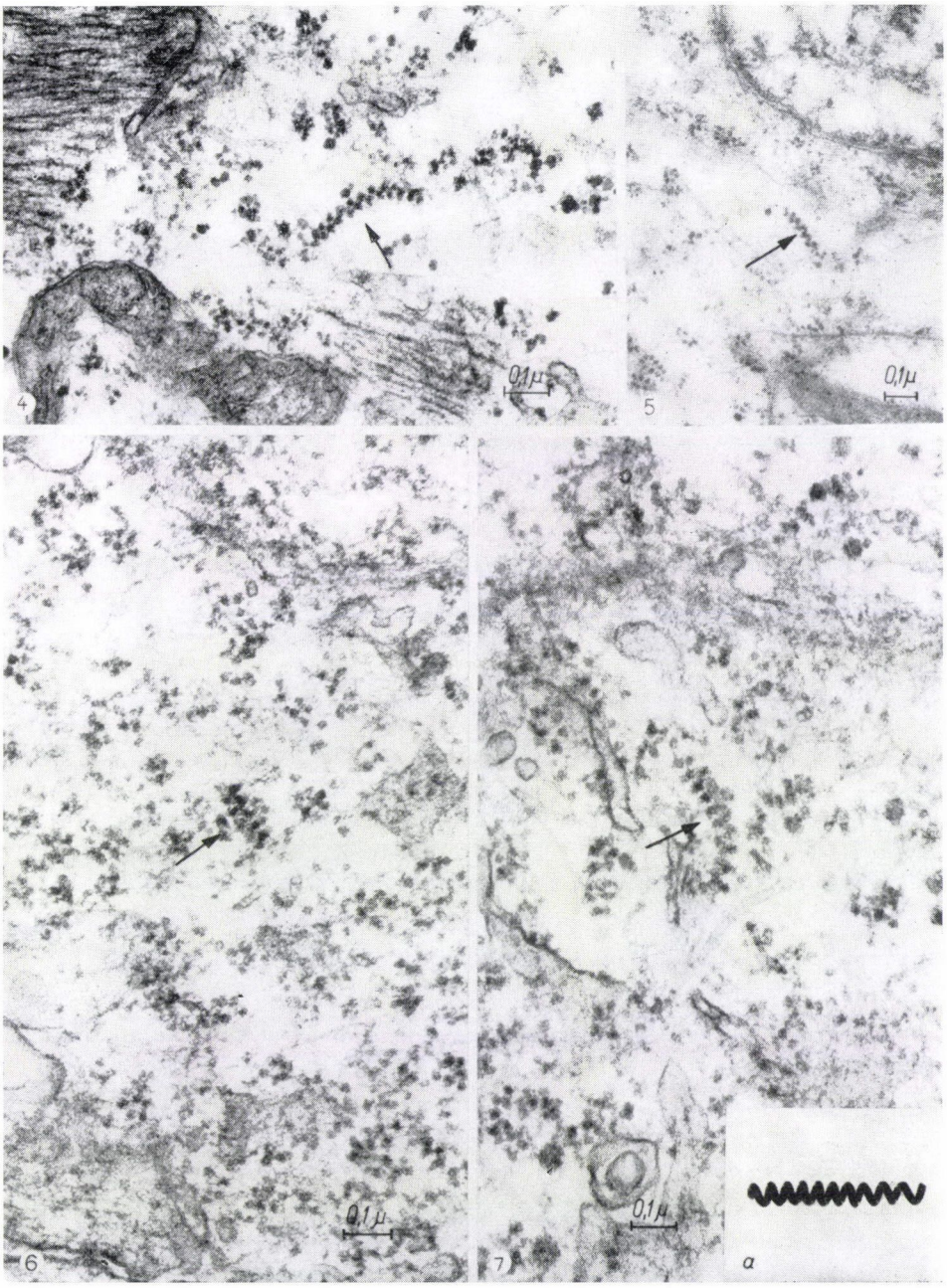
2. ábra A fehérjeszintézis mechanizmusa a poliriboszóma-koncepció alapján (GIERER 1963. után)

ződő myofilamentumok között többnyire az ún. szabad riboszómák társaságában gyakran megfigyelhetők a riboszómákkal azonos denzitású és uranilacetáttal intenzíven festődő zegzugos hosszanti képletek. Ezek különösen azokban a myoblastokban jelentkeznek nagy számban, melyekben a myofilamentumok már éppen megjelentek.

A struktúra morfológiai megjelenése önkéntelenül egy csavarszerű struktúra benyomását kelti. A struktúra helikális konfigurációját természetesen csak közvetve igazolhatjuk. Így pl. egy rugószerűen megcsavart drótdarab árnyképe lényegében azonos, zegzugos lefutású képet ad (7a ábra). Amennyiben helikális struktúráról van szó, ultravékony metszeteken meg kell találnunk a csavarmenetek elmetszett darabjait is, különösen a helix végén. Ilyen képek gyakran előfordultak (3. és 8. kép). A zegzugos képletet alig interpretálhatjuk másképpen, mint csavarszerű konfigurációval. Elképzelhető lenne még egy olyan lehetőség, hogy a sötét részecskék (riboszómák) egy vonal mentén (messenger RNS) váltakozva egyik, ill. másik oldalon helyezkednek el. Ebben az esetben a riboszómák egy síkban rendeződnének. Ennek következtében kellene olyan képeket kapnunk, ahol a síkot éléről látjuk és így a riboszómák tömötten, egyenes vonalat alkotnak. Ilyen képek sohasem fordultak elő anyagunkban. Ezen túlmenően a struktúra mérete is cáfolja a riboszómák alternatív elhelyezkedésének lehetőségét: egy riboszóma átmérője



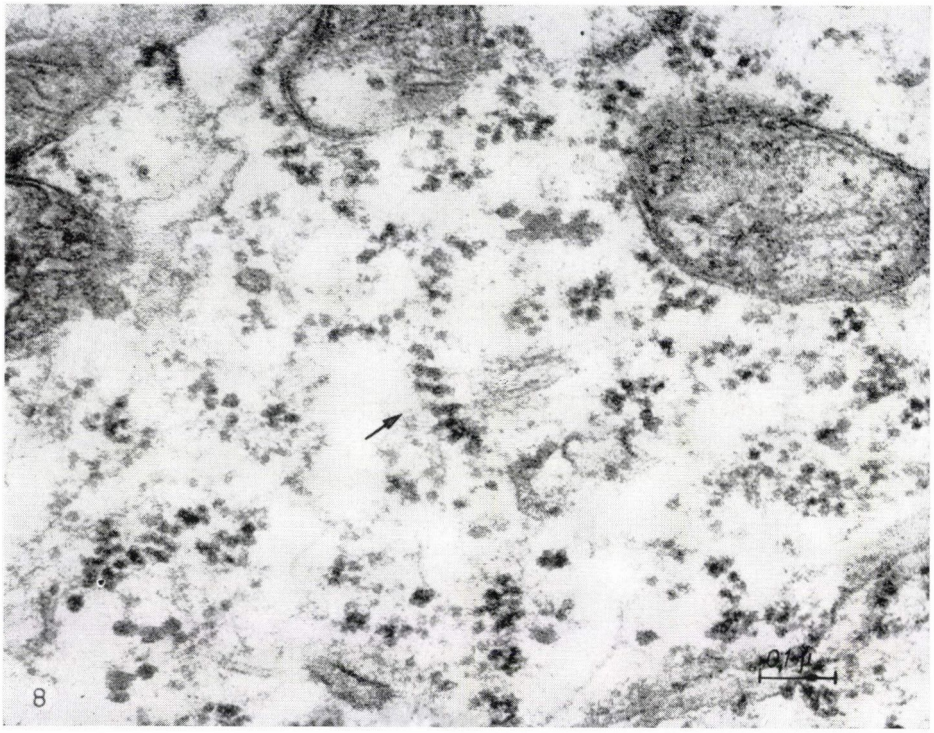
3. ábra. Riboszóma-helixek (nyilak) 5 napos csirkeembrió myoblastjából



4—7. ábra. Riboszóma-helixek (nyilak) 5 napos csirkeembrió myoblastjából. 7a. rugószerűen csavart drót árnyképe (modell)

160 Å, így a képlet szélessége 2 × 160 Å, + messenger RNS, 10 Å = 330 Å lenne. A helix átmérője viszont 450—600 Å.

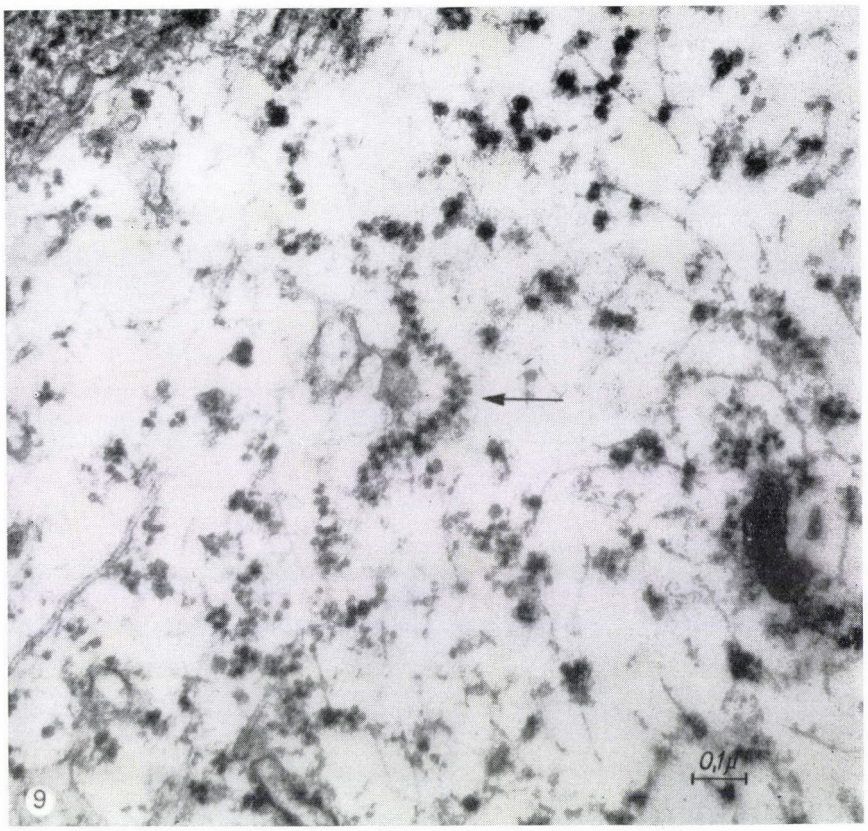
Felmerül az a lehetőség, hogy a helikális struktúra esetleg fixálási műtermék (riboszómák összecsapzódása az elégtelen fixálás következtében). Ezzel kapcsolatban megjegyezzük, hogy a helixeket először ozmiumfixált anyagon figyeltük meg, majd a glutáraldehid-ozmium kombinált fixálás be-

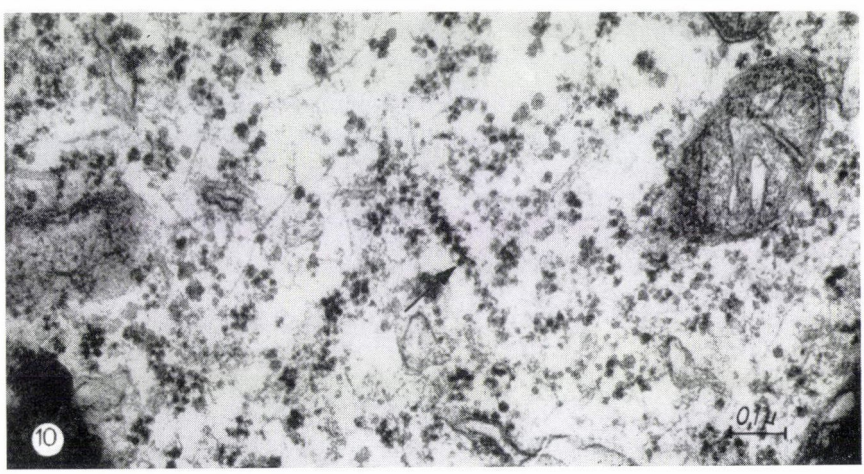


8. ábra. Riboszóma-helix ferde metszete. Az egyes félmenetek, mint ferde párhuzamos vonalak jelentkeznek

vezetése után még típusosabban találtuk meg. Az utóbbi fixálásról közismert, hogy tökéletesebb fixálást biztosít, mint az ozmiumsavas. A káliumpermanganát a riboszómákat nem fixálja és így a fixálás ellenőrzésére nem alkalmas.

A helix méretei a következők: szélessége 450—600 Å, a helixet alkotó vonal vastagsága 160 Å, az egyes menetek egymástól való távolsága 250—500 Å (a menet meredeksége tehát változó). A csavarszerű struktúra hosszát igen nehéz megállapítani, tekintettel arra, hogy a metszetek vastagsága alig valamivel nagyobb mint a helix átmérője és így az a metszet síkjából igen könnyen kikerülhet. Sorozatmetszetek azonban azt bizonyítják, hogy 10—20 menetnél hosszabb helixek nem fordulnak elő (9. és 10. ábra). Ha feltételezzük, hogy a helixet riboszómák polimerizációja hozza létre, a benne helyetfoglaló riboszómák száma (a leghosszabb helix esetében) 150-re tehető.





9—10. ábra. Két leghosszabb riboszóma-helix (nyilak)

A struktúra riboszóma, RNS természetére vonatkozólag jelenleg csak közvetett bizonyítékokkal rendelkezünk. 1. Ilyen pl. az, hogy a helix denzitása és uranilacetáttal való festődése (melyet általában a nukleinsavakra jellegzetesnek tartanak) azonos a riboszómáéval. 2. A csavart alkotó fonal szélessége 160 Å, tehát megegyezik a riboszóma átmérőjével. 3. A helix előfordulása mindig a citoplazma bazofil területéhez a „szabad" riboszómák előfordulásához kötött. 4. Mind a riboszómának, mind a helixnek finoman csíkolt, 30 Å periodicitású szubstruktúrája van (melyet azonban bizonyos mértékig zavar a beágyazóanyag, a hordozó hártya és a kontrasztozó festék által létrejött háttér-szemcsézettség). Konkrét bizonyítékot csak a metszeteken történő ribonukleáz-emésztés jelentene, azonban ezt jelenleg a megfelelő beágyazóanyag hiánya nem engedi meg. A blokkban végzett ribonukleáz-emésztés ez ideig nem vált be, ilyen irányú kísérleteink jelenleg folyamatban vannak.

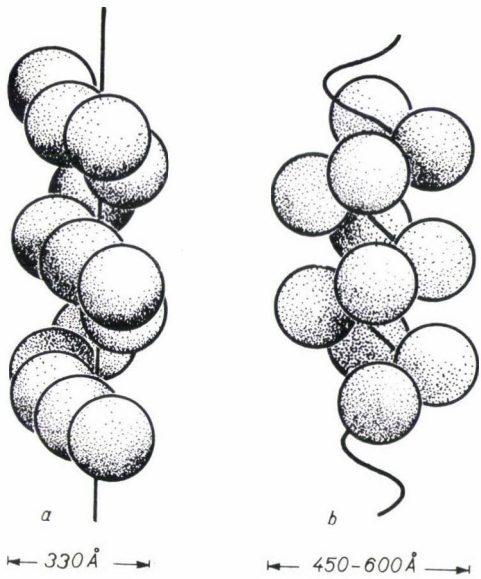
A háttér szemcsézettsége megakadályozta annak megállapítását, hogy a struktúra teljesen zárt, kontinuus fonál-e vagy pedig egyedi riboszómák lineáris egymáshozrendeződéséből jön-e létre. A csavarmenetben eddig egyedi riboszómákat, ill. azokat elválasztó réseket nem tudtunk biztonsággal kivenni.

A helixeket legtípusosabban és leggyakrabban a myoblastsejtekben figyeltük meg, hosszuk is itt a legnagyobb. Megtaláltuk azonban még idegsejteken, többrétegű laphám alsó rétegeiben, csigaszem pigmentsejtjeiben is. Irodalmi adatok szerint előfordul még: odonto- és adamantoblastokban (Moe 1963), differenciálódó bélhámsejtekben (Behnke 1963), béka farkbimbójának myoblastjaiban (Waddington és Perry 1963), in vitro tenyésztett szívizomsejtekben (Cedergren és Harary 1965) és növényi pollen anyasejteken (Echlin 1965).

Önként felvetődik a kérdés, hogy az eddigi molekuláris-biológiai vizsgálatokban, a megfelelő centrifugált frakciókban miért nem fordult elő ez a helikális struktúra. Ennek magyarázata kettős lehet. Az egyik tényező feltehetőleg az, hogy nem vizsgálták ilyen szempontból azokat a sejtféleségeket, melyekben ezek a struktúrák előfordulnak. A másik ok az izolálási módszer hátrányaiban keresendő. Az izolálandó objektumot ugyanis részben aránylag durva mechanikai, részben pedig kémiai hatásoknak teszik ki, majd pedig a centrifugálás után elektronmikroszkópos hordozóhártyára, többnyire fixálás nélkül szárítják rá. A száradáskor fellépő erők az igen érzékeny struktúrákat súlyosan deformálhatják, nem beszélve a negatív vagy pozitív festéskor, árnyékoláskor fellépő elváltozásokról.

Az első gondolat, mely a helikális struktúrának az eddigi riboszóma struktúrákkal való összevetésekor felvetődik az, hogy hogyan magyarázható ez a struktúra eddigi ismereteink alapján. Legkézenfekvőbbnek látszik az, hogy jelen esetben egy igen nagyméretű, speciális poliriboszómáról van szó. Bár a retikulocitákban, melyek a hemoglobin, egy aránylag kis fehérjemolekula szintézisét végzik, a pentamer poliszómák a legjellegzetesebbek, egyes

vizsgálatok szerint HeLa sejtekben és más sejtekben akár 30—40 tagból álló riboszómaláncok is vannak (WINKELMANS, HILL és ERRERA 1964, PHILLIPS, RICH és SUSSMAN 1964). A kódolás miatt a messenger-RNS hossza arányos kell hogy legyen a szintetizálandó peptidlánc hosszával. A hosszabb RNS-lánchoz természetesen több riboszóma tapadhat és így óriás poliriboszómák



11. ábra. Sémás rajz a riboszóma-messenger-RNS kapcsolat lehetőségére. Magyarázat a szövegben

létezése elképzelhető. Ha tehát az előbb ismertetett struktúra egy ilyen poliriboszóma, hogyan magyarázható a helikális konfiguráció? Elméletileg két lehetőség adódik (11. ábra). Vagy az egyenes vonalú messenger RNS-en helyezkednek el a riboszómák csigavonalban, vagy pedig maga a messenger RNS görbül helikálisan és ehhez mint vezető struktúrához asszociálódnak a riboszómák. A riboszóma-helix méreteit tekintetbe véve az utóbbi lehetőség látszik valószínűbbnek.

Végül, ha végigtekintjük a helikális riboszóma-struktúrák előfordulását az egyes sejttípusokban, akkor feltűnik, hogy elsősorban azokban a differenciálódó sejtekben található, ahol membránhoz nem kötött, ún. szabad riboszómák fordulnak elő. Ezek a sejtek általában intracelluláris fehérje-filamentumokkal rendelkeznek (myofilamentumok, keratinfilamentumok, neurofilamentumok). Úgy tűnik tehát, hogy a helikális struktúrák nem a kiválasztásra kerülő (váladék) fehérje szintéziséhez, hanem a sejt saját, feltehetőleg filamentáris fehérjéinek képzéséhez szükségesek. Ennek bizonyításához természetesen részletes biokémiai, molekuláris biológiai vizsgálatok lennének szükségesek.

IRODALOM

BEHNKE, O.: Helical arrangement of ribosomes in the cytoplasm of differentiating cells of the small intestine of rat foetuses. Exp. Cell Res., **30,** 597—598 (1963)

CEDERGREN, B. és HARARY, I.: In vitro studies on single beating rat heart cells. VI. Electron microscopic studies of single cells. J. Ultrastr. Res., **11,** 428—442 (1964)

ECHLIN, P.: An apparent helical arrangement of ribosomes in developing pollen mother cells of Ipomoca purpurea (L) Roth. J. Cell Biol., **24,** 150—153 (1965)

GIERER, A.: Function of aggregated reticulocyte ribosomes in protein synthesis. J. Mol. Biol., **6,** 148—157 (1963) MOE 1963, idézi BEHNKE (1963)

PHILLIPS, W. D., RICH, A., SUSSMAN, R. R.: The isolation and identification of polyribosomes from cellular slime moulds. Biochem. Biophysic. Acta, **80,** 508—510 (1964)

RÖHLICH, P. és TÖRÖK, L. J.: Die Feinstruktur des Auges der Weinbergschnecke (Helix pomatia L). Z. Zellforsch., **60,** 348—368 (1963)

SLAYTER, H. S., WARNER, J. R., RICH, A., HALL, C. E.: The visualization of polyribosomal structure. J. Mol. Biol., **7,** 652—657 (1963)

STRUGGER, S.: Schraubig gewundene Fäden als sublichtmikroskopische Bauelemente des Cytoplasmas. Naturwiss., **43,** 451—452 (1956)

WADDINGTON, C. H. és PERRY, M. M.: Helical arrangement of ribosomes in differentiating muscle cells. Exp. Cell Res., **30,** 599—600 (1963)

WARNER, J. R., RICH, A., HALL, C. E.: Electron microscope studies of ribosomal clusters synthesizing haemoglobin. Science, **138,** 1399—1403 (1962)

WEISSENFELS, N.: Elektronenoptischer Nachweis von Schraubenstrukturen im Grundzytoplasma tierischer Zellen. Naturwiss., **44,** 241—242 (1957)

WINCKELMANS, D., HILL, M., ERRERA, M.: Ribosomes from HeLa cells. Biochim. Biophys. Acta, **80,** 52—62 (1964)

A MECHANO-KÉMIAI KAPCSOLÁS ÉS AZ IZOM HYPERTROPHIÁJA

NIEDETZKY ANTAL

POTE Biofizikai Intézete

Gépi működés szempontjából vizsgálva a kérdést az izomműködés mechanikai alapfolyamata abból áll, hogy az izom rövidül feszülés (nyújtás) ellenében, vagyis a rövidüléssel egy időben erőkifejtés történik. A rövidülés tehát mindig nyújtó erő ellenében történik. Csak kivételesen fordul elő, hogy az izomrövidülés nem erőkifejtéssel egy időben megy végbe.

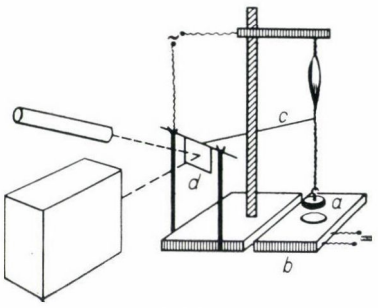
ERNST és KOCZKÁS 1935-ben elsőként közöltek olyan kísérleti adatokat [1], melyek az izomban a mechano-kémiai kapcsolat létezésére utaltak. Kimutatták, hogy a nyugvó izom nyújtásakor befektetett energia potenciális elasztikus energia formájában tárolódik és a nyújtás megszüntetése után csillapodó rezgések, ill. visszalengés formájában jelenik meg [2]. Ezzel szemben a tetanuszosan megrövidült izom nyújtásába fektetett energia nem jelenik meg potenciális elasztikus energia formájában, hanem másfajta energiává alakul át. Ez volt az első kísérletes bizonyíték arra, hogy az aktív izomban a kívülről bevitt mechanikai energia más energiaformává alakulhat át.

15 évvel később, 1950-ben HILL kimutatta [3], hogy a nyújtás (vagy feszítés) formájában bevitt mechanikai munka hő formájában sem jelenik meg.

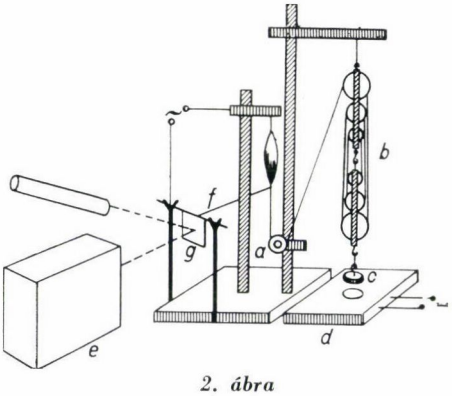
Mivel a kérdésnek véleményünk szerint az izomműködés alapfolyamatainak tisztázása szempontjából nagy jelentősége van, az intézet 30 év előtti kísérleteit megismételtük érzékenyebb optikai regisztrálási módszerrel. A kísérletekhez előbb béka izolált m. gastrocnemiusát használtuk, majd kiterjesztve a kísérleteket áttértünk a parallel rostú izmok használatára. Ezek rövidülése nagyobb és ezért a kapott eredmény is sokkal kifejezettebb. A kísérletek céljaira a m. semimembranosus bizonyult a legalkalmasabbnak. Az izmot eredési és tapadási helyén csont csonkkal preparáltuk. A vizsgálati metodika röviden összefoglalva a következő volt:

Milliméter osztályzattal ellátott fémállványra, melyen egy kar függőleges irányban mozgatható, az izmot a csont csonknál fogva acélhorog segítségével felfüggesztettük. A felfüggesztett izom alsó végén levő csont csonkba acélhorgot erősítettünk, erre láncot akasztottunk, a lánc alsó végén vassúly függött. A vassúly alá erős elektromágnest helyeztünk, ennek segítségével végeztük az izom nyújtását. Az izom elmozdulását a hozzákapcsolt tükörről visszavert fény elmozdulásának fotografikus regisztrálásával rögzítettük.

Ezen metodikának a m. semimembranosusra való alkalmazása kapcsán több nehézség vetődött fel. Hogy a kísérlet előtt az izomra akasztott súly ne nyújtsa meg nagymértékben az izmot, kis súlyt kellett alkalmaznunk. Az ingerléskor bekövetkező nagymértékű rövidülés miatt azonban a vassúly olyan távol kerül az elektromágnestől, hogy az a súlyt nem tudja magához rántani. Ezért csigasor alkalmazásával más metodikát vezettünk be.



1. ábra



2. ábra

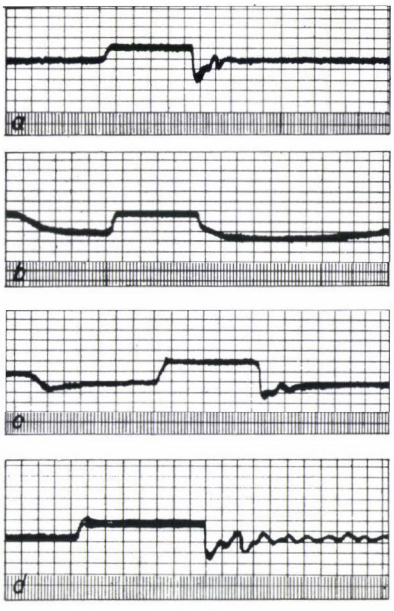
Az izom alsó vége közbeiktatott csiga segítségével 3 pár csigából álló csigasorral volt kapcsolatban és a csigasorra függesztettük a vassúlyt. Igy elértük, hogy a vassúlynak csak 1/6 része nyújtja az izmot és a semimembranosus tetanuszos rövidülésének csak 1/6 részével távolodott a súly a mágnestől.

Ezen berendezés segítségével a nyugvó izmot először maximálisan megnyújtottuk, majd hirtelen megszüntettük a nyújtást (3a ábra).

A nyújtás megszüntetése után rugalmas csillapodó rezgéseket észleltünk. Ez a nyújtás alkalmával az izomban felhalmozott potenciális elasztikus energia jelzőjének tekinthető. Ezzel szemben a visszalengés elmarad, ha az ingerelt és tetanuszosan megrövidült izmot nyújtottuk (3b ábra). Ha azonban az izmot eredeti hosszán túl nyújtottuk, a nyújtás megszüntetése után a nyugvó izoménak megfelelő visszalengést észleltünk (3c ábra). Ezután annak igazo-

lására, hogy a fáradás nem játszik szerepet a kísérletben, a nyugvó izommal megismételtük az első kísérletet (3d ábra).

Az a felfogás, melyet korábban intézetünk is vallott, hogy a tetanuszosan megrövidült izom nyújtására fordított munka a kontrakciós folyamat „visszaszorítására" használódik fel, nem tartható fenn. Több adat szól ezen nézet



3. ábra

ellen, többek között az intézetünkben végzett módosított Mosso-féle kísérletek is. E kísérletekben az izomfáradás jelenségét vizsgálták. Megállapították, hogy nagy erőkifejtést igénylő munka esetén pár perc múlva fellép a fáradás jelensége (általában 200—300 kontrakció után) és a kontrakciók amplitúdója fokozatosan 0-ra csökken. Ezt szubjektív fáradtságérzés is kíséri. Erőkifejtés nélkül azonban ugyanez az izomrendszer képes hosszú ideig, akár 20—30 percig is maximális amplitúdójú kontrakciók végzésére, fáradás nem következik be [4]. Az idegi faktorok kikapcsolásával, izolált izmon végzett kísérletek ezzel teljesen megegyező eredményt adtak.

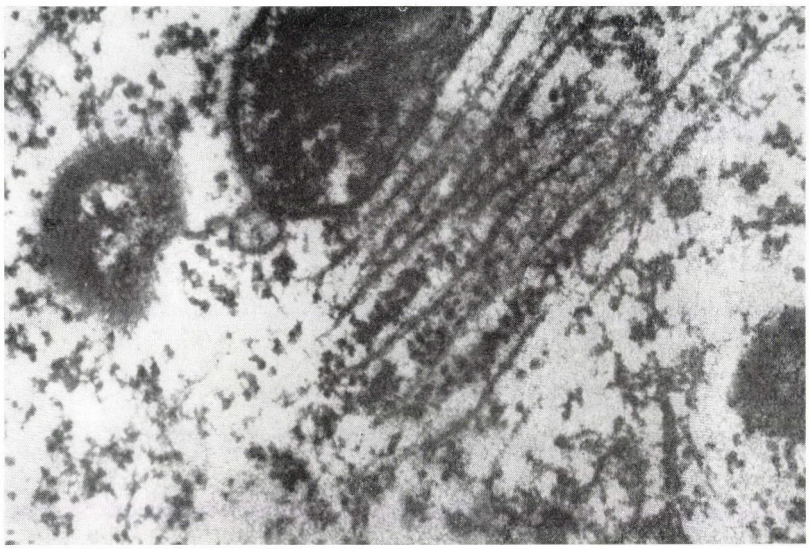
A tetanuszosan megrövidült izom nyújtására fordított munka tehát nem jelenik meg sem elasztikus potenciális energia formájában, sem hő alakjában és a fenti Mosso-féle kísérletek alapján véleményünk szerint nem a kontrakciós folyamat „visszaszorítására" fordítódik [5]. Ezek alapján felvetődik a kérdés, hogy a nyújtás révén befektetett energia milyen más energiaformává alakul át?

Intézetünkben kialakult az a felfogás, hogy a kontrahált izom nyújtására használt energia kémiai energiává alakul át, ez az energia fehérjeszintézis

létrehozására szolgál és izomhypertrophiát eredményez. A befektetett munka tehát mechano-kémiai kapcsolat révén automatikusan fehérjeszintézist eredményez.

Természetesen ezen felfogás igazolása további kísérletes munka feladata lesz. Azonban már jelenleg is rendelkezésünkre állnak olyan adatok, melyek ezt a felfogást valószínűsítik és a mechano-kémiai kapcsolat szerepét látszanak igazolni. Így:

a) Nem élő biológiai rendszerekben a nyújtás révén bevitt energia hő alakjában jelenik meg [6].



4. ábra

b) Elhalt izomnál ugyancsak hő alakjában jelenik meg a nyújtással bevitt energia [6].

c) Az elmúlt években jelentek meg olyan elektronmikroszkópos képek, melyek a myofilamentumok és a fehérjeszintézisért mai tudásunk szerint felelős riboszómák között állapítottak meg szoros lokalizációs kapcsolatot. Ennek illusztrálására CEDERGREN és HARARY 1964-ben közölt képét mutatom be [7].

Az ábrán jól látható a myofilamentumok és az ezekkel párhuzamosan elhelyezkedő riboszóma-láncolatok szoros kapcsolata.

Összefoglalva: Intézetünkben kialakult nézet szerint a rövidült izom nyújtására fordított munka mechano-kémiai áttétel révén fehérjeszintézist eredményez és az izom hypertrophiáját okozza. Gépi működés szempontjából tehát az izom olyan „gépet" jelentene, amely fokozott igénybevétel hatására automatikusan növelni tudja teljesítőképességét.

IRODALOM

1. Ernst, E. u. Koczkás, J.: Z. Biol., **96,** 201 (1935)
2. Koczkás, Gy.: MTA Biol. Oszt. Közleményei, **4,** 1—2. 155 (1960)
3. Abbott, B. C., Aubert, X. M. a. Hill, A. V.: Proc. Roy. Soc. Biol., **139,** 86 (1950)
4. Niedetzky A.: MTA Biol. Oszt. Közleményei, **4,** 1—2. 161 (1960)
5. Ernst, E.: Die Muskeltätigkeit. Budapest, (1958)
6. M. Mórocz-Juhász: Acta Physiol. Acad. Sci. Hung., **22,** 281 (1962)
7. B. Cedergren a. I. Harary: J. Ultrastruct. Res., **11,** 428 (1964)

AZ ARGININ BIOSZINTÉZIS ALLOSZTÉRIKUS ENZIMJÉNEK TULAJDONSÁGAI CHLAMYDOMONAS REINHARDTIBAN

DÉNES GÉZA és FARAGÓ ANNA

Budapesti Orvostudományi Egyetem Orvosi Vegytani Intézete

Korábbi vizsgálatok során megfigyelték, hogy a különböző élőlények fiziológiás körülmények között fehérjéik, nukleinsavaik stb. felépítéséhez csak annyi aminosavat, nukleotidot szintetizálnak, amennyi a bioszintetikus folyamatokhoz éppen szükséges. Ezekből az anyagokból sohasem keletkezik felesleg az élő szervezetekben. Ez a jelenség csak akkor érthető, ha feltételezzük, hogy az aminosavak és más létfontosságú vegyületek bioszintézise szabályozott módon folyik. A reguláció fontossága a különböző aminosavak bioszintézisének folyamatában könnyen érthető, ha meggondoljuk, hogy egy-egy fehérje szintéziséhez a különböző aminosavakból különböző mennyiségek szükségesek, és az összes aminosavnak a megfelelő koncentrációban rendelkezésre kell állnia.

A kérdés az, hogy az élő szervezetek milyen regulációs mechanizmusokkal rendelkeznek, amelyek meggátolják, hogy egy — egyébként létfontosságú — anyag, pl. aminosav, feleslegben keletkezzék. Az aminosavak bioszintézisének regulációját vizsgálva megfigyelték, hogy a kész aminosav, a végtermék, gátolja a keletkezésében részt vevő több tagból álló enzimrendszer első enzimjének aktivitását [1, 2]. A szabályozásnak ezt a módját végtermékgátlásnak, vagy a kibernetikából kölcsönvett kifejezéssel feedbackgátlásnak nevezték el. Ezt a jelenséget az aminosavak bioszintézisének szabályozásán kívül más kis molekulasúlyú anyagok, pl. nukleotidok bioszintézisének szabályozására is kimutatták, mind bakteriális, mind magasabbrendű, pl. emlős szervezetekben. Valószínű, hogy a végtermékgátlás általánosan elterjedt regulációs mechanizmus az egész élő világban.

A végtermékgátlás létrejöttének mechanizmusa azonban nem magyarázható a régebben ismert enzimaktivitást befolyásoló mechanizmusokkal. A néhány közelebbről megvizsgált, többé-kevésbé izolált feedback-szenzitív enzim tulajdonságaiból következtethetünk a feedback-szenzitív enzimek általános tulajdonságaira. Ilyen enzim pl. az izoleucin keletkezésében szerepet játszó treonindeamináz [3, 4], a hisztidin bioszintézis első lépését katalizáló foszforibozil-ATP-pirofoszforiláz [5], a CTP-vel gátolható aszpartáttranszkarbamiláz, s köztük az általunk vizsgált arginin érzékeny acetilglutamátfoszfokináz. Ezek a tulajdonságok a következőkben foglalhatók össze:

Az inhibitor végtermék kémiai szerkezete egyáltalán nem hasonlít az általa gátolt enzim szubsztrátjának vagy közvetlen termékének kémiai szerkezetére.

Az enzim az inhibitorra nézve igen specifikus, ez a specificitás olyan mértékű, mint az általában enzimek és szubsztrátjuk közt szokásos.

Az enzim affinitása a feedback inhibitorral szemben nagyobb, mint saját szubsztrátjával szemben, a szubsztrát telítés mellett teljes gátlást okozó inhibitor koncentráció két-három nagyságrenddel kisebb a telítési szubsztrát koncentrációnál. Ez a jelenség nagyon fontos a reguláció hatékonysága szempontjából.

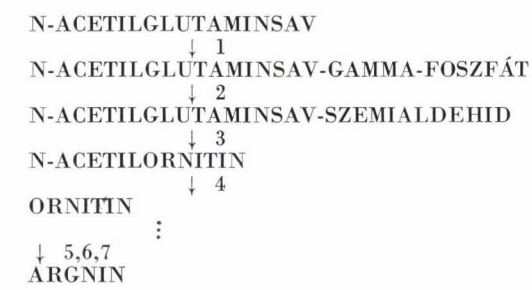
A feedback inhibitorral okozott gátlás minden esetben reverzibilis. A gátlás kinetikai szempontból igen gyakran látszólag kompetitív, vagy parciálisan kompetitív valamelyik szubsztráttal szemben. Előfordul azonban, hogy a gátlás nem kompetitív jellegű.

Az eddig közelebbről vizsgált enzimek egy részében denaturáló ágensek, mint óvatos hőkezelés, nehézfémek, pl. Hg^{++}, Ag^{+} hatására el lehetett érni a feedback érzékenység irreverzibilis megszűnését, miközben a katalitikus aktivitás megmaradt.

Több enzim esetében sikerült megkülönböztetni a végtermék analógok kétféle csoportját. Az analógok egyik csoportja önmaga is képes gátlást létrehozni, míg másik csoportjuk önmaga nem gátol, és a természetes inhibitorral együtt adva felfüggeszti annak az enzimre gyakorolt gátló hatását. (Pl. treonin-deamináz esetében leucin és norleucin.)

Mindez a jelenség arra utal, hogy a némely esetben látszólag szabályos kompetitív kinetika ellenére is a katalitikus aktivitásért és a feedback gátlásért nem ugyanaz a hely felelős. Monod és munkatársai 1963-ban arra a feltételezésre jutottak, hogy az ilyen típusú enzimeken legalább két aktív centrum van, az egyik a szubsztrát, a másik az inhibitor számára. A kettő kapcsolatát az enzim konformációjának változása biztosítja oly módon, hogy az inhibitor kötődése az enzimen, az enzim harmadlagos struktúrájában idéz elő olyan változást, amely a szubsztrát kötődését megnehezíti, vagy lehetetlenné teszi. Kompetitív kinetika esetén ennek fordítottja is igaz, a szubsztrát kötődése a katalitikus centrumon egy másfajta konformációt idéz elő, amelyben az inhibitor kötő hely affinitása csökken, vagy tűnik el a végtermékkel szemben. Az ilyenfajta, legalább két aktív centrummal rendelkező enzimeket, amelyek között a kölcsönhatást az enzim konformációváltozása biztosítja, Monod allosztérikus enzimeknek nevezte el. Ez az elmélet jól magyarázza a fentebb felsorolt feedback gátlásra jellemző adatokat (6).

Továbbiakban saját kísérleteinken szeretném demonstrálni az előző állításokat. Vizsgálatainkat *Chlamydomonas reinhardti* édesvízi algán végeztük. A *Chlamydomonas reinhardti* arginin bioszintézise acetilglutaminsavból indul ki.



1. ábra. Az arginin bioszintézis enzimatikus lépéseinek vázlata

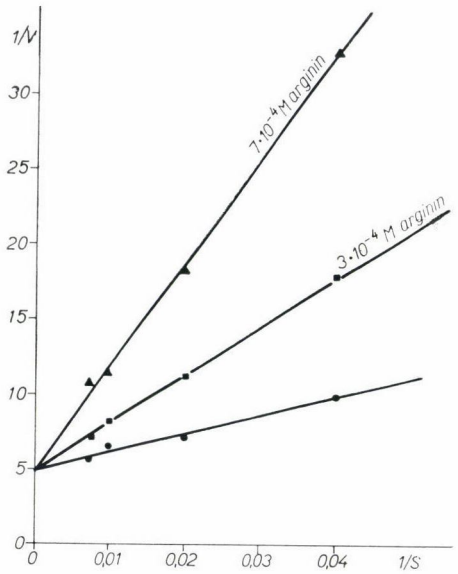
A feedback szenzitív enzim, az acetilglutaminsav-gamma-foszfokináz argininnal gátolható. A reakció, amelynek során az acetilglutaminsav-gamma-foszfát keletkezik, Mg^{++}-t és ATP-t igényel. Az enzimaktivitás méréséhez a reakcióelegyet NH-OH jelenlétében inkubáljuk, és a keletkezett terméket hydroxámsav reakció segítségével mutatjuk ki.

Az algák feltárását fagyasztott állapotban, darálással végezzük, az enzimet a nyers kivonathoz képest hússzorosára tisztítottuk. Az összes vizsgálatok ezzel a hússzorosan tisztított enzimmel történtek.

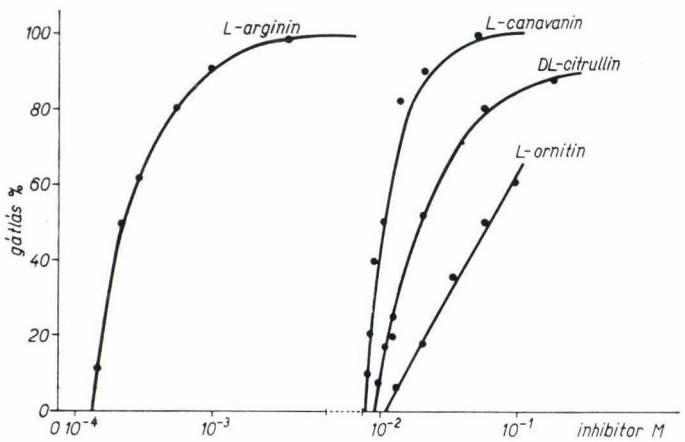
Az enzim katalitikus aktivitásának és argininnal való gátolhatóságának pH optimuma egymástól különbözik. A katalitikus aktivitásé pH 5,4 körül, a gátlásé 7,4 körül van. A gátlás az arginin és acetilglutamát között látszólag kompetitív jellegű. Az enzim $7{,}5 \cdot 10^{-2}$ M szubsztráttal telíthető. A szubsztráttal telített enzim aktivitását 10^{-3} M arginin teljesen gátolja. A szubsztrát és inhibitor koncentrációja között tehát közel két nagyságrend különbség van.

Az arginin analógok, a kanavanin és citrullin szintén képesek gátlást létrehozni. Láthatjuk tehát, hogy bár mindkét analóg képes létrehozni az enzim gátolt állapotának megfelelő konformációváltozást, ehhez azonban az argininnél majdnem két nagyságrenddel nagyobb, a szubsztrátkoncentrációval megegyező mennyiségben kell jelen lenniük. Az enzim tehát velük szemben sokkal kevésbé érzékeny, mint a természetes inhibitor argininnal szemben.

Feltételezve, hogy az acetilglutamát-gamma-foszfokináz katalitikus aktivitásáért és feedback gátolhatóságáért más-más csoport felelős, valamint hogy a kétféle funkcionális állapotnak kétféle konformáció felel meg, igyekeztünk olyan kísérleti körülményeket találni, amelyek a katalitikus aktivitást érintetlenül hagyva, felfüggesztik az argininnal okozott gátlást. Ez a jelenség urea alkalmazásával kimutatható. Az urea 1,5 M-nál kisebb koncentrációban a reakcióelegyben nem befolyásolja az enzim katalitikus aktivitását, a feedback szenzitivitást azonban reverzibilisen megszünteti. Az arginin koncentráció növelésével ismét elérhető a gátlás. A különböző fokú gátlást előidéző arginin és urea koncentráció arányát a következő ábra szemlélteti. Láthatjuk tehát, hogy az egy bizonyos fokú gátlást előidéző arginin és urea koncentráció aránya konstans, tehát az urea hatása az argininnel szemben látszólag kompetitív



2. ábra. Az N-acetilglutamát-γ-foszfokináz aktivitásának gátlása argininnel. A gátlás Lineweaver—Burk szerint ábrázolva

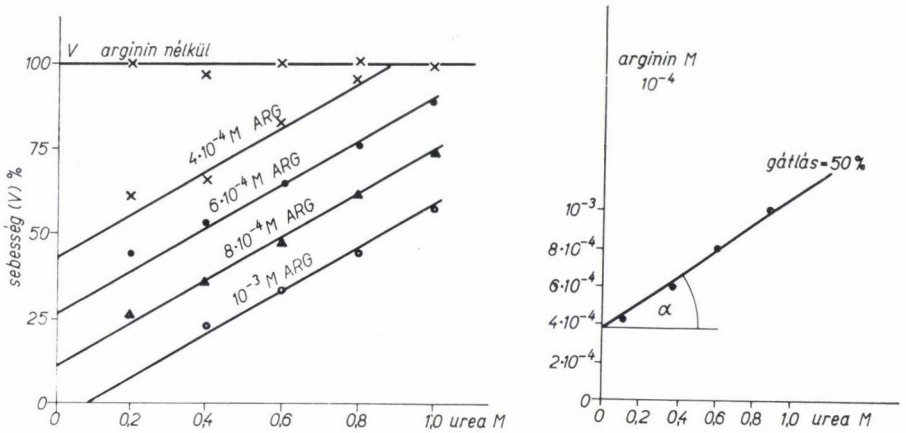


3. ábra. Az N-acetilglutamát-γ-foszfokináz aktivitásának gátlása argininnel és arginin analógokkal

jellegű. Ennek a látszólag kompetitív hatásnak a magyarázatára többféle elképzelés szolgálhat. Az egyik lehetőség az, hogy az urea hasonlítván az arginin guanidin-csoportjához, valóban a feedback szenzitív helyhez kötődne, s azt az arginin számára hozzáférhetetlenné téve, a kettő között valódi kompetitív antagonizmus áll fenn.

Az urea felfüggeszti a citrullinnal és kanavaninnal előidézhető gátlást is, azonban nem függeszti fel az ornitin által okozott gátlást. Ezért, valamint a nagyon magas koncentrációért, amelyben hatásos, az ornitin által okozott gátlást aspecifikusnak tartjuk.

Felmerülhet azonban a kétség, hogy valódi kompetitív antagonizmus van-e az urea és az arginin között. Más allosztérikus enzimeknél, mint a Pardee által vizsgált aszpartát-transzkarbamiláznál, ahol az allosztérikus inhibitor a CTP, valamint a Sanwal és Stachow által vizsgált izocitrátdehidrogenáznál [7],



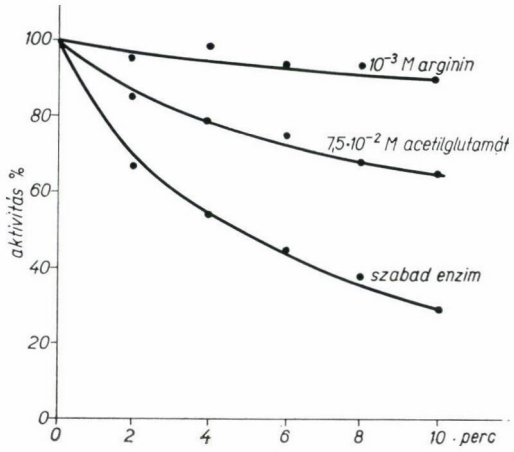
4. ábra. Az arginin enzimaktivitást gátló hatásának felfüggesztése ureával

ahol az alloszterikus effektor a citrát — ezek az anyagok nem gyanúsíthatóak azzal, hogy hasonlítanak reájuk az urea — 1 M-nál kisebb koncentrációban alkalmazva szintén a katalitikus aktivitás érintése nélkül képes felfüggeszteni az allosztérikus effektust. Mint már hangsúlyoztuk, az allosztérikus effektus lényege az a konformációváltozás, amelyet az allosztérikus inhibitornak az enzimre való kötődése indukál. Nem szükséges az ureának közvetlenül az inhibitor kötő helyre hatnia. Elég, ha az enzim harmadlagos struktúráját fellazítja úgy, hogy ez az állapot csak nehezebben, magasabb arginin koncentráció jelenlétében jöhet létre.

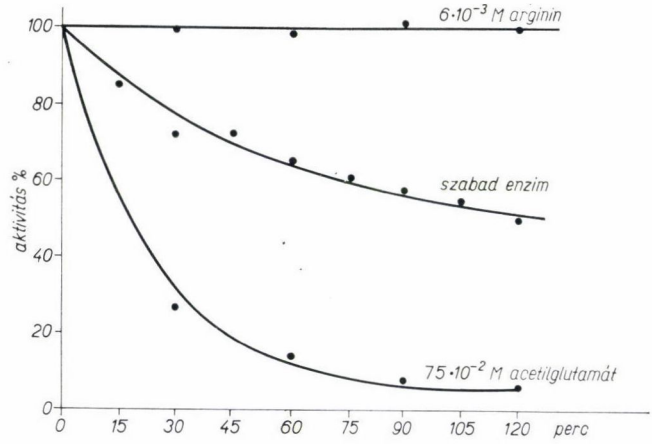
Az acetilglutamát-gamma-foszfokináz esetében, a natív enzim számára lehetséges legstabilabb konformáció az, amely arginin jelenlétében jön létre. Az inhibitor-enzim komplex hő hatásával szemben stabilabb, mint a szubsztrát-enzim komplex, noha a szubsztrát is stabilizálja az enzimet bizonyos mértékig hő hatásával szemben.

Ez a jelenség (amelyet az enzim tisztításánál is felhasználunk) nem mond ellent annak a ténynek, hogy más allosztérikus enzimeket, pl. az aszpartát-transzkarbamilázt, enyhe hőkezeléssel deszenzitizálni lehetett a feedback inhibitor CTP-vel szemben, tehát az inhibitor kötő hely sérülékenyebbnek

bizonyult a katalitikus centrumnál. A deszenzitizálást ugyanis nem az inhibitor jelenlétében végezték, CTP jelenlétében melegítve, a gátolhatóság továbbra is megmarad. Meg kell azonban említenem, hogy az acetilglutamát-gamma-foszfokináz esetében az argininnel szembeni érzékenységet sem hővel,



5. ábra. Az N-acetilglutamát-γ-foszfokináz hőinaktiválása 63 °C-on szubsztrát és inhibitor jelenlétében



6. ábra. Az N-acetilglutamát-γ-foszfokináz inaktiválása 4 M ureával 0 °C-on szubsztrát és inhibitor jelenlétében

sem PCMB-vel nem sikerült csökkenteni, itt tehát az inhibitor kötő hely maga is legalább olyan stabil ezekkel a behatásokkal szemben, mint a katalitikus centrum.

Hogy az enzim-inhibitor komplex mind az enzim-szubsztrát komplexhez, mind a szabad enzimhez viszonyítva más konformációt jelent, azt a magas koncentrációjú ureával végzett inaktiválásos kísérletek is igazoljákt.

Tekintve, hogy az arginin és urea között kompetíció áll fenn, az arginin koncentráció úgy van megválasztva, hogy az 4 M urea mellett is teljes gátlást hozna létre. Látható, hogy az ilyen koncentrációjú arginin mellett az enzim teljesen stabil, míg ugyanilyen körülmények között önmagában lassan inaktiválódik. Meglepő azonban, hogy a szubsztrát acetilglutamát nemhogy nem stabilizálja az enzimet ureával szemben, de még gyorsítja a denaturációt a szabad enzimhez képest.

Mindez azt bizonyítja, hogy az acetilglutamát-gamma-foszfokináz számára többféle natív konformáció lehetséges. A különböző konformációk egyben különböző funkcionális állapotot jelentenek, amelyekből az átalakulás egymásba lehetséges, sőt szükségszerű. Azt, hogy az enzim számára aktuálisan melyik a valószínűbb állapot, azt a szubsztrát és az inhibitor koncentrációjának viszonya határozza meg elsősorban.

A feedback szenzitív enzimekkel végzett vizsgálatok az enzimaktivitás szabályozásának olyan mechanizmusát derítették fel, amellyel nemcsak a végtermékgátlás magyarázható. Ismeretes az a jelenség, hogy a glukóz-6-foszfát, amely a glikogén bioszintézis első lépésének szubsztrátja, fokozza a katalitikus sorban több lépéssel később következő glikogén szintetáz aktivitását [8]. Ugyancsak ismert az a tény, hogy az acetil-CoA-karboxiláz aktivitását, amely enzim a zsírsav bioszintézis első lépését katalizálja, citrát fokozza. A hatás mechanizmusát itt is az allosztérikus tranzíció jelenti [9]. Olyan jelenségcsoportról van tehát szó, ahol valamilyen kis molekulasúlyú anyagnak egy enzimhez való kötődése megváltoztatja a fehérje funkcionális állapotát, holott a kis molekulasúlyú anyag nem szubsztrátja az enzimnek, és azzal semmiféle kémiai rokonságban nincs. Ennek a mechanizmusnak pontosabb felderítése olyan folyamatok megértésének kulcsát adhatja kezünkbe, mint amilyen a magasabbrendűekben levő hormonális szabályozás, amelynél, legalábbis részben, valószínűleg analóg jelenségek játszódnak le.

További kísérleteinkkel az allosztérikus effektor által okozott konformációváltozás pontosabb részleteit szeretnénk tisztázni.

IRODALOM

1. Umbarger H. E.: Science **123**, 848 (1956).
2. Yates R. A., Pardee A. B.: J. Biol. Chem. **221**, 757 (1956).
3. Freundlich M., Umbarger H. E.: Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **28**, 505 (1963)
4. Changeux J. P.: Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **28**, 497 (1963)
5. Martin R. G.: J. Biol. Chem. **237**, 257 (1962)
6. Monod J., Changeux J. P., Jacob F.: J. Mol. Biol. **6**, 306 (1963)
7. Sanwal B. D., Stachow C. S.: Biochem. Biophys. Acta **96**, 28 (1965)
8. Leloir L. F., Goldenberg S. H.: J. Biol. Chem. **235**, 919 (1960)
9. Vagelos P. R., Alberts A. W., Martin D. B.: J. Biol· Chem. **237**, 1787 (1962)

A BIOLÓGIAI TUDOMÁNYOK HELYZETE ÉS FEJLŐDÉSE HAZÁNK FELSZABADULÁSA ÓTA ELTELT 20 ÉVBEN

HORVÁTH IMRE

Agrártudományi Egyetem Mezőgazdaságtudományi Kar Növénytani és Növényélettani Tanszék, Gödöllő

A biológiai tudományok — gazdasági és kulturális eredményeinkhez hasonlóan — a felszabadulás óta eltelt 20 évben gyors ütemben fejlődtek. Nem is 20, hanem csak 15 év eredménye e fejlődés, mivel az csak a Magyar Tudományos Akadémia (MTA) 1949 végén történt újjászervezése után indult meg országos szinten tervszerűen. A fejlődés három tényezőre vezethető vissza, melyek között fontossági sorrendet nehéz volna megállapítani. E tényezők a következők:

1. tervszerűség a tudományos kutatómunkában,
2. az MTA irányító szerepének kibontakozása,
3. nagyobb személyi és anyagi támogatás.

1. Tervszerűség a tudományos kutatómunkában

E tényezők közül talán a kutatómunkában való tervszerűség biztosítása a legnehezebb feladat. Ez elsősorban abból adódik, hogy a tudományos kutatásban az ismeretlent kell tervezni, korábbi ismeretek alapján felállított hipotézis segítségével. A tervezést nehezíti — a technika gyors fejlődéséből adódóan — a műszerek és kutatási módszerek rohamos fejlődése.

Nem frázis a kutatók azon megjegyzése, hogy ma korszerűnek tartható műszer vagy módszer néhány év alatt elavulttá válik. Gondoljunk csak arra, hogy a biológiai kutatásokban is általánosan használt fotometriás kémiai meghatározást nemrégen a ma már „klasszikusnak" tartott Pulfrich-féle fotométerrel vizuális észlelés alapján végezték a kutatók. A mai spektrofotométerek nemcsak a vizuális észlelésnél sokkal nagyobb pontosságú műszeres leolvasást biztosítják, hanem automatizált megoldással az adatokat rögzítik is. Percek alatt megoldható így pl. különböző anyagok abszorbciós spektrumának nagy pontosságú felvétele. A kísérleti adatok matematikai statisztikai módszerekkel történő exakt értékelésében elektronikus számológépek könnyítik és teszik — néhány évvel ezelőtt elképzelhetetlenül — gyorssá a kutatók munkáját. Az elmúlt évek rohamos fejlődését figyelembe véve el sem lehet kép-

zelni, hogy 5—10 év múlva milyen műszerek és módszerek állnak majd a biológiai kutatások szolgálatába.

Annak ellenére, hogy a tudományos kutatómunka tervezése objektíven nehéz feladat, mégis alapvetően fontos és — a gyakorlat bizonyossága szerint — megoldható. A tervezéshez szükséges megfontolások elősegítik a sok kutatható probléma közül az elméleti és gyakorlati szempontból legfontosabb kérdések kiválasztását. Biztosítja ezenkívül a rendelkezésre álló anyagi és személyi lehetőségek jobb kihasználását is. A tervezés hasznosságát a népgazdaság minden területén (az ipar, mezőgazdaság stb.) elért eredmények bizonyítják, és ma már nemcsak a szocialista, hanem a kapitalista államokban is a gazdasági tevékenység alapját képezi.

A tudományos kutatások tervezése hazánkban nem egészen 15 éves múltra tekint vissza, és ebben a biológia kezdeményező szerepet töltött be. Először a biológiai kutatásokkal kapcsolatosan készült országos vonatkozásban ötéves kutatási terv.

Az MTA újjászervezése után közvetlenül, még 1950-ben az akkori Biológiai és Agrártudományok Osztálya a biológus kutatók széles közreműködésével fogott hozzá a magyar biológiai kutatások első ötéves tervének elkészítéséhez. Több mint 300 összegyűjtött résztémából alakította ki akkor az Osztály a biológus akadémikusok és vezető szakemberek tevékeny közreműködésével az első ötéves országos kutatási tervet. Ha nem nagy távlatból — de ma már tárgyilagosan megállapítható, hogy ez a terv, ha nem is tudta minden vonatkozásban helyesen megjelölni a legfontosabb kutatási feladatokat — jó és értékes kezdeményezés volt. Nagymértékben elősegítette a tudományos kutatási tevékenységben a tervszerű munka kialakulását. Nemcsak elméleti kérdések megoldására hívta fel a figyelmet, hanem — amit e terv bevezetője is hangoztatott: „... a kutatások az ötéves népgazdasági terv szükségleteinek szolgálatában álljanak", — a gyakorlat problémái megoldásának elősegítésére is tekintettel volt.

E kutatási terv a biokémia és biofizika kivételével átfogta az egész biológiát (biológiatörténet — mikrobiológia — talajbiológia — hidrobiológia — növénysejttan és sejtélettan — növényszövettan — növényélettan — növényöröklődéstan — flórakutatás és növényrendszertan — növényökológia és növénycönológia — mikológia és növénykórtan — paleobotanika — botanikus kertek — állatélettan — szövet- és alaktan — állatöröklődéstan — faunisztika — madártan — ősállattan — embertan). Amint a témacsoportokból is megállapítható, gyakorlati kérdések megoldását is ténylegesen feladatul tűzte ki mezőgazdasági vonatkozásban. Orvosbiológiai vonatkozások — amely a biológiai alapkutatások eredményeinek másik nagy gyakorlati felhasználási területe — nem tükröződtek e tervben. Ez érthető is, hiszen e terv akkor a közös Biológiai és Agrártudományok Osztálya keretében készült és nem alakult még ki abban az időben az Akadémián belül az osztályok közötti kapcsolat.

A témacsoportokon belül témákból és azok célkitűzéséből az is megállapítható, hogy e terv általában helyesen emelte ki a legfontosabb kutatási problémákat. Így például a növényélettani kutatások első témája a „Fotoszintézis, valamint tápláléknövényeink anyagtermelő képességének fokozása" volt. Napjainkban is e kettős kutatási irány képezi a növényélettani kutatások egyik fő problémáját. Gondoljunk például arra, hogy KGST vonalon az egyik biológiai közös kutatási téma a „Fotoszintézis" kutatás, és a közeljövőben meginduló Nemzetközi Biológiai Program (IBP) világviszonylatban tűzi ki feladatul a különböző biotópok produkciójának és a produkciót meghatározó törvényszerűségeknek a feltárását.

E kutatási terv konkrét — kutatókra bontott — formában készült el, és minden témának, még abban az esetben is, ha ezt több intézetben végezték, volt egy országos felelőse.

A tervszerű munkára való serkentés mellett e kutatási tervnek még egy másik jelentősége is volt: munkaközösségek kialakításán keresztül a kollektív kutatómunkára való nevelés. Ez elsősorban az akkori vezető biológus akadémikusok szakmai területének megfelelően (Soó R., Zólyomi B., Dudich E.) főleg a rendszertan, valamint állat- és növényföldrajz területén bontakozott ki. Az úgynevezett „növényföldrajzi-térképezés" hosszú éveken keresztül szervezetten összefogta a növényrendszertani és növényföldrajzi kutatásokkal foglalkozó szakemberek munkáját, és egységes módszerek kialakításával (1951. évi vácrátóti tanfolyam) az eredmények összehasonlíthatóságát is biztosította. E térképezés eredményeként az ország nagy részéről a gyakorlat számára is (pl. Erdőtipológiai-útmutató) hasznosítható növényföldrajzi térképek készültek.

A biológiai kutatási terv alapján az MTA keretein belül más tudományterületen is készültek később kutatási tervek, 1959-ben pedig már kialakultak az összes tudományterületet átfogó országos távlati kutatási terv elkészítésének a feltételei is. Az országos távlati kutatási tervben a biológiai kutatások két főfeladattal szerepelnek: „Magyarország növény- és állatvilágának rendszertani és cönológiai feldolgozása" és „Sejtek és szövetek kutatása". Az országos távlati tervek kimunkálása, a tervezés adminisztratív vonatkozásainak megoldása ma már fejlettebb formában történik, mint az 1950-ben a biológiai kutatások első tervezése során. Vitatható azonban az, hogy tartalmi vonatkozásban többet nyújt-e a jelenlegi országos távlati kutatási terv a biológia számára. Ha szigorú értelemben címszerűen nézzük e két biológiai főfeladatot, az elsősorban a rendszertani és morfológiai, tehát a még ma is gyakran leíró módszereket alkalmazó tudományterületek kiemelését jelenti. Ezzel szemben az MTA-n belül is a biológiai tudományokkal kapcsolatosan a leginkább felmerült probléma a múltban az volt, hogy a leíró módszereket alkalmazó biológiai kutatások fejlesztése (általános szóhasználat szerint „leíró") mellett, nem volt kielégítő a főleg kísérletes módszerekkel dolgozó („ex-

perimentális") biológiai tudományok fejlesztése. Annak ellenére, hogy ez a probléma 1950-ben még egyáltalán nem merült fel, a biológia e két „területe" között jobb arányt biztosított az akkori — első — kutatási terv, mint formailag a mai. A biológiai kutatások 1950-ben készült tervében ugyanis például a „leíró" módszereket alkalmazó botanikai témák száma 17 volt, a kísérletes módszereket alkalmazóké pedig 21. Abban az időben a „leíró" botanikus kutatók száma több volt, mint a kísérletes módszerekkel dolgozóké, és így többen is dolgoztak a kisebb számú „leíró" témákon, de a terv a témákkal — azok számát is figyelembe véve — jobban irányította a biológiai kutatások fejlesztését az experimentális módszerek fokozott alkalmazására, mint a mai országos távlati tudományos terv biológiai főfeladatai.

2. Az MTA irányító szerepének kibontakozása

A biológiai tudományok fejlődését jelentősen elősegítette a Magyar Tudományos Akadémia irányító szerepének kibontakozása. A régi Tudományos Akadémiával szemben az 1949 őszén újjászervezett MTA tagjai számára tudományterületük aktív művelése mellett tudományszervező, irányító és szervező tevékenység is alapvető feladat. Így a vezető tudósok szervezett közreműködése tudományterületük irányításában nagymértékben elősegíti annak gyorsabb és helyesebb irányú fejlődését. Az akadémiai ülésektől az Akadémia elnökségének az osztályvezetőségek tevékenységén keresztül a szakbizottságokig különböző szinten történik ennek megvalósulása. Ez a probléma tartalmi része, melyet egyértelműen pozitíven lehet megítélni.

Az MTA irányító szerepének kibontakozása szervezeti téren is megnyilvánul. Ez utóbbit azonban az elért eredmények ellenére sem lehet egyértelműen pozitíven megítélni. Minden tudományterület (pl. kémia) fejlődése a szervezeti formát tekintve az MTA keretein belül egy irányú volt az elmúlt 15 évben, kivéve a biológiát. E szervezeti bizonytalanság feltétlenül kihatott a tartalomra, és lassította a biológia fejlődésütemét.

Az MTA újjászervezésekor a biológia, az agrártudományokkal együtt egy osztály kereteibe tartozott. Hamar felmerült azonban a biológia önálló osztállyá szervezésének szükségessége, annak ellenére, hogy a biológia kapcsolata az agrártudományokkal szoros, és egymásra kölcsönösen jó hatású. 1952. január 1-én ezért létrejött a Biológiai Tudományok Osztálya. E szervezeti keret azonban sajnos csak rövid ideig maradt fenn. Az MTA vezetősége sürgette az experimentális kutatások fokozott fejlesztését, sajnos azonban nem vette kellőképpen figyelembe az akkori személyi adottságokat. A megoldáshoz két módon kínálkozott lehetőség: az egyik az experimentális módszerekkel dolgozó, de akkor más osztályhoz — elsősorban az Orvostudományok Osztályához — tartozó akadémikusok átkerülése a Biológiai Tudo-

mányok Osztályához, a másik az Osztály megszüntetése. A választás akkor ez utóbbira esett és a Biológiai Osztály akadémikusainak egy részét Orvosi, más részét az Agrártudományok Osztályához csatolták, és létrehozták most már a Biológiai és Orvostudományok Osztályát. A biológiát tehát most jó részt a másik alkalmazott biológiai tudományhoz kapcsolták. Amint az agrártudományokhoz való kapcsolás sem vezetett eredményre, úgy az orvostudományokhoz való kapcsolás sem. Így az Osztály megszüntetése után két évvel a Biológiai és Orvostudományok Osztályán belül ún. Biológiai Csoportot szerveztek, külön vezetőséggel, mely összefogta az Agrártudományok Osztályához és a Biológiai és Orvostudományok Osztályához tartozó biológusokat. A Biológiai Csoport akadémikusai azonban szervezetileg továbbra is a másik két Osztály kereteiben maradtak. A biológia fejlődése szervezeti vonatkozásban ettől kezdve mondható csak egyenletesnek. A Biológiai Csoport ugyanis a Biológiai és Orvostudományok Osztályán belül mind nagyobb szerepet és függetlenséget kapott, majd végül „osztály jelleggel" működött. Közben az élet is bebizonyította, hogy a jó szervezeti forma nemcsak a biológia, mint alaptudomány fejlődését segíti elő, hanem az alkalmazott biológiai tudományok fejlődése is jelentős mértékben függ a biológiának, mint alaptudománynak a fejlődésétől. A Biológiai Csoport ezért az MTA Elnökségének megbízásával 1962 januárjában kidolgozta a Biológiai Csoport osztállyá alakulásával kapcsolatos „tudománypolitikai alapelveket". Az „alapelvek" leszögezik, hogy „... a biológiai tudományok egész komplexumának fejlesztésében az orvostudományi problémák eredményes megoldásában és a mezőgazdaság továbbfejlesztésének elősegítésében alapvető a biológiai alaptudományok fokozott fejlődése". Megállapítható, hogy „nem jártak sikerrel azok az eddigi intézkedések, melyek a biológia fejlődését az erők átcsoportosításával kívánták megoldani. Elmaradtunk az alapkutatások bázisainak létesítése terén". A Biológiai Csoport az experimentális módszerekkel dolgozó és a főleg leíró módszereket alkalmazó biológiai tudományterületek helyes arányát figyelembe véve javaslatot tett a biológiai kutatások fejlesztésére, és önálló Biológiai Osztály ismételt felállítására. Az 1962. évi közgyűlés ezt a javaslatot elfogadta, és létrehozta ismét az azóta is működő Biológiai Tudományok Osztályát. Ez az osztály most már magában foglalta mindazokat az akadémikusokat, akik a biológiát alapkutatási szinten művelik (Ábrahám A., Dudich E., Ernst J., Jávorka S., Maucha R., Soó R., Straub F. B., Szentágothai J., Törő I., Zimmermann Á., Zólyomi B.). Az 1962 óta eltelt idő bebizonyította, hogy ez a szervezeti forma jó, és elősegíti a biológiai tudományok hazai egészséges fejlődését.

Még két probléma, mely sok tekintetben szervezeti vonatkozású.

a) A felszabadulás után hazánkban bekövetkező nagy politikai változások világnézeti síkon is megnyilvánultak. Ez természetes is, hiszen a kapitalista társadalmi renddel szemben a szocialista társadalmi rend világnézeti

alapja a dialektikus materialista filozófia. Az idealista és materialista filozófia harca a tudományokat is érinti, mivel ezek ismeretelméleti alapja filozófia. Különösen élesen bontakozott ki e világnézeti harc a biológiában, mely tudományban az idealista filozófia a reakciós és fasiszta fajelméletig vezetett. Így érthető, hogy a természettudományok közül a biológiában közelítette meg legjobban az ideológiai harc a politikai életben bekövetkező világnézeti harcot. A biológiában lejátszódó ideológiai harc ezért sok vonatkozásban magával hozta azokat a káros és talán elkerülhető „kinövéseket", melyek a személyi kultuszban jutottak végül is kifejezésre. Különösen éles volt e harc a Szovjetunióban, ahol T. D. Liszenko személyében és tevékenységében bontakozott ki a személyi kultusz. A liszenkoizmus sok vonatkozásban gátolta a korszerű biológiai kutatás fejlődését. E világnézeti harc, különösen az 1950-es évek elején nálunk is éreztette hatását, de inkább csak filozófiai síkon. Alapjában nem korlátozta és nem tette lehetetlenné talán egyetlen, a nem micsurini koncepció alapján álló biológus munkáját sem.

b) A Biológiai és Agrártudományok, majd a Biológiai Tudományok Osztálya kezdetben arra törekedett, hogy figyelemmel legyen az összes Magyarországon folyó biológiai tudományos kutatómunkára. Ezt tükrözte a biológiai kutatások első ötéves terve is, mely tekintettel volt a kis kutatási kapacitással rendelkező Tanárképző Főiskolák biológiai tanszékeire, és néhány vidéki múzeumra is. Ez egyébként az 1950-es évek elején általános törekvésként jelentkezett az MTA-n és következett az újjászervezett Akadémia megváltozott szerepéből és az akkori alapszabályból is. Később az MTA irányító tevékenysége az alapkutatásokra korlátozódott, majd a Tudományos és Felsőoktatási Tanács 1958-ban történt megalakulása után ez a feladat elsősorban a saját intézeteire csökkent. Az 1959—62 között megtörtént úgynevezett „koncentráció" eredményeként nemcsak a Tanárképző Főiskolák biológiai tanszékein és a múzeumokban (a Természettudományi Múzeum kivételével) folyó kutatások irányítása került minisztériumi hatáskörbe, hanem több egyetemi biológiai intézet és tanszék is. Ezen irányítás és ezzel kapcsolatos támogatás megosztás után a Biológiai Tudományok Osztálya csak a legfontosabb és legnagyobb kutatási volumenű egyetemi intézeteket és tanszékeket tartotta meg. Így 1962-ben a korábbi 51 céltámogatott intézmény helyett csak 18 maradt a Biológiai Tudományok Osztálya irányítása alatt. E koncentrálás feltétlenül tartalmasabbá és elmélyültebbé tette a Biológiai Tudományok Osztályának tevékenységét saját intézeteiben és a továbbra is támogatott intézményekben.

3. Személyi és anyagi támogatás

Helyes elvek és jó szervezeti forma önmagában nem elégséges egy tudományterület megfelelő ütemű fejlődéséhez. Ehhez személyi és dologi feltételek is szükségesek. Áttekintve a személyi és dologi lehetőségek változását

az MTA-n belül a biológia tudományterületén az elmúlt 15 évben, a fejlődésgátló szervezeti problémák ellenére is egy irányú fejlődésnek lehetünk tanúi.

Különösen számottevő volt az a személyi és anyagi támogatás, amit 1963-ban a Tudományos és Felsőoktatási Tanács biztosított a biológiai tudományok fejlesztésére. E támogatás tekintélyes részét a Biológiai Tudományok Osztálya használta fel. Ennek eredményeként jelentősen korszerűsödött az akadémiai intézetek és támogatott intézmények műszerfelszereltsége is.

a) *Tudományos minősítés és személyi feltételek*

A tudományos minősítés bevezetése és a szervezett tudományos utánpótlás biztosítása a biológiai szakemberek számát nemcsak mennyiségben, hanem minőségben is növelte. 1954-ben az egyszerűsített módon történt minősítések befejezésekor 12 kutató nyerte el a biológiai tudományok doktora címet és 45 kutató a biológiai tudományok kandidátusa fokozatot. 1964 decemberében ezzel szemben 29 kutató rendelkezett a biológiai tudományok doktora, 141 a biológiai tudományok kandidátusa fokozattal. A kandidátusi fokozatot megszerzett kutatók közül 35 aspirantúrán keresztül nyerte el azt. Ha meggondoljuk, hogy az aspirantúra nemcsak szakmai, hanem fokozott ütemű világnézeti fejlődést is jelent, még nagyobbra lehet értékelni az előbbrehaladást.

Jelentős a fejlődés az MTA-val közvetlen kapcsolatban álló kutatók és segédszemélyzet számának növekedésében is. Az MTA státuszában levő kutató — és segédszemélyzet részint az Akadémia intézeteiben, részint a támogatott intézményekben dolgozik. 1950-ben az MTA-hoz egyetlen biológiai kutatóintézet tartozott, melyben 15 kutató, 12 segédszemélyzet dolgozott. Támogatott intézményekben a biológia nem rendelkezett egyetlen státuszhellyel sem. 1964. végén a Biológiai Tudományok Osztálya négy kutatóintézetében 59 kutató és 116 segédszemélyzet állt alkalmazásban és a támogatott intézményekben (főleg egyetemi intézetek és Tanszékek) 42 kutató és 49 segédszemélyzet segíti elő a tudományos kutatómunkát.

b) *Intézetek és intézetfejlesztési program*

A tudományos program megoldásához alapvető olyan intézethálózat kiépítése, melyben a felügyeletet gyakorló szerv tervező és irányító tevékenysége közvetlenül érvényre juthat. Az MTA újjászervezésekor csak egyetlen biológiai intézet került az Akadémia felügyelete alá: a Művelődésügyi Minisztériumtól átvett Tihanyi Biológiai Kutatóintézet. 1952 januárjában, amikor az MTA Biológiai Tudományok Osztálya először megalakult, az Osztály egy további intézetet is kapott. A Művelődésügyi Minisztériumtól átvett Vácrátóti Parkban létrehozták a Botanikai Kutatóintézetet és Botanikus Kertet. Később két további intézet került a Biológiai Tudományok Osztályához, illetve

Csoporthoz, az FM-től átvett Genetikai Intézet és az 1950-ben szervezett akadémiai Biokémiai Intézet. Ezek az intézetek azonban — főleg a két utóbbi megalakulása és átvétele előtt — csak kismértékben fedték le azokat a tudományterületeket, melyeknek a fejlesztése kiemelten fontos feladata volt a Biológiai Tudományok Osztályának. Így pl. növényélettani kutatómunka egyik intézetben sem folyt. Próbálkozás történt ugyan a vácrátóti Botanikai Kutatóintézetben 1952-ben növényélettani osztály létrehozására, azonban ez részint személyi, részint tárgyi okok miatt nem sikerült.

A biológiai intézetfejlesztési program tervszerű előkészítése 1951 januárjáig nyúlik vissza. P. A. BARANOV szovjet akadémikus magyarországi látogatása során vetődött fel részéről az a probléma, hogy miért nincs Magyarországon az Akadémiának központi botanikai kutatóintézete. Ezt BARANOV akadémikus a legfelsőbb állami és pártvezetés előtt is észrevételezte. Nem sokkal ezután az MTA elnökségének felszólítására a Biológiai és Agrártudományok Osztálya különböző tudományterületek és hatóságok képviselőinek bevonásával bizottságot hozott létre, melynek feladata a Központi Biológiai Kutatótelep terveinek előkészítése volt. E tervezet 1953-ra elkészült, de megvalósítását a Biológiai Tudományok Osztályának akkori megszüntetése lehetetlenné tette. Az akkori tervezetben inkább a növényrendszertani, növényföldrajzi kutatások feltételeinek jobb megszervezése került előtérbe, de helyet kapott volna a növényélettan és genetika is. Az akkori elképzelés szerint a zoológiai kutatásokat a tihanyi Biológiai Kutatóintézetben lehetett volna biztosítani. A Biológiai Tudományok Osztályának megszüntetése után néhány éven keresztül az intézetfejlesztési program előkészítésében nem történt előrehaladás, csak 1956-ban foglalkozott ismét a régebben elkészült tervek alapján a Biológiai Csoport vezetősége ezzel a kérdéssel. 1959-ben a Biológiai Csoport ismételt előterjesztést tett — átdolgozva a korábbi terveket — a Központi Biológiai Kutatótelepre az MTA Elnökségének. A korábbi és az 1959-es elképzelés is az volt, hogy ezt a létesítményt Budapesten a Hűvösvölgyben helyezzék el, ahol megfelelő terület áll az intézetek, az ezekhez kapcsolódó Botanikus Kert és a szükséges kísérleti területek rendelkezésére. Az ezt követő időben a Biológiai Csoport vezetőségének a figyelmét mindinkább az osztállyá történő átszervezés előkészítése kötötte le, ezért a biológiai intézetek fejlesztési programja háttérbe került.

A Biológiai Tudományok Osztályának ismételt létrehozása után 1963-ban újra napirendre került a biológiai intézetek fejlesztése. A korábban elkészült tervek természetesen kiegészítésre szorultak a közben bekövetkezett fejlődés miatt. Most már ugyanis megvolt a lehetőség arra, hogy a biológia minden tudományterülete megfelelő súlyt kapjon az intézetkomplexum keretein belül. A Biológiai Tudományok Osztályának vezetősége rövid idő alatt átdolgozta a korábbi intézetfejlesztési tervet, melynek első lépcsőjében négy intézet kapott helyet:

Biokémiai Intézet
Biofizikai Intézet
Genetikai Intézet
Növényélettani-Ökológiai Intézet.

Terv szerint ezeket az intézeteket a korábbi elképzelésnek megfelelően Hűvösvölgyben kell létrehozni. Az országos kultúrpolitika irányelveit figyelembe véve azonban az illetékes szervek úgy határoztak, hogy vidéken indokolt a biológiai intézetek létrehozása. Így a hűvösvölgyi telepítésről a Biológiai Tudományok Osztálya kénytelen volt lemondani. Perspektivikusan természetesen nem okoz problémát a vidéki elhelyezés, rövidebb távlatban azonban feltétlenül nehézséget jelent, mivel a biológiai kutatások és a kutatók nagy része Budapesten koncentrálódik. A vidéki elhelyezések közül az egyetemi városok kerültek előtérbe, ahol ha a budapestinél kisebb volumenben is, de van biológiai alapkutatás. A lehetőségek közül Szegedre esett a választás. Azóta már megtörtént az intézetek helyének kijelölése és előreláthatóan rövidesen megkezdődik az építkezés is.

E terv megvalósítása nemcsak dologi, hanem személyi vonalon is nagy feladat elé állítja a Biológiai Tudományok Osztályát. Erre a Biológiai Osztály, sőt már korábban a Biológiai Csoport is gondolt, és a mindenkori lehetőségeknek megfelelően igyekezett előkészíteni személyi és dologi vonatkozásban egyaránt az intézetfejlesztési programot. E feladat megoldását szolgálják elsősorban az Akadémia támogatott intézményeiben megszervezett úgynevezett kutatócsoportok. Így biofizikai kutatócsoport létesült a Pécsi Orvosi Egyetem Biofizikai Intézete, növényélettani kutatócsoport pedig az ELTE Növényélettani Intézete mellett. A Gödöllői Agrártudományi Egyetemen működő állatgenetikai kutatócsoport már 1964 óta, mint a Genetikai Kutatóintézet egyik osztálya működik. Az ELTE Alkalmazott Növénytani és Szövetfejlődéstani Intézetében szervezett növényi mikrostruktúra kutatórészleg munkája is az intézetfejlesztési program előkészítését jelenti. Ezekben a kutatócsoportokban koncentrálja az Akadémia tanszéki támogatásának nagy részét, így a személyi támogatás 56%-a, a dologi támogatás 44%-a már 1964-ben is a kutatócsoportokban került felhasználásra.

c) *Külföldi kapcsolatok és tudományos együttműködés*

Jelentős a fejlődés a külföldi kapcsolatok terén is. Az 1950-es évek elején alig volt lehetőség biológus kutatók akadémiai támogatással történő külföldi útjára, ezzel szemben 1964-ben a Biológiai Tudományok Osztálya közvetlen támogatásával 89 kutató volt külföldi tanulmányúton, illetve vett részt tudományos rendezvényeken. A külföldi tanulmányúton részt vett kutatók közül 14 három hónapot meghaladó időt töltött külföldön; így szakmai fejlődésük mellett a nyelvtanulás is fokozottan biztosított. Erre különösen nagy szükség

van, mivel a fiatalabb kutatók nagy része aktív nyelvtudással nem rendelkezik. A Biológiai Tudományok Osztályának nem régen történt adatgyűjtése alapján biológus kutatóknak csak 6%-a rendelkezik olyan nyelvtudással, hogy két idegen nyelven előadó- és vitaképes.

Gyors a fejlődés a külföldi szakemberek Magyarországra történő utazásában is. Míg pl. 1950-ben az MTA keretein belül egyetlen külföldi biológus volt Magyarországon, addig 1964-ben 46. Szocialista vonatkozásban a szakemberek kölcsönös utazását kulturális egyezmények nagymértékben elősegítik, 1964-ben a külföldi utazások 27%-a ebben a keretben történt. Kulturális egyezményt az utóbbi időben már több kapitalista állammal is kötöttek, és várhatóan ez a lehetőség is tovább épül.

A közvetlen személyes kapcsolatok mellett a nemzetközi együttműködést szocialista vonatkozásban a KGST keretein belüli együttműködése mellett elősegíti még az úgynevezett kétoldalú akadémiai együttműködés, melynek keretében egy-egy magyar intézet egy vagy több külföldi intézettel közvetlenül működik közre.

d) *Folyóiratok, kiadványok*

A biológus kutatók publikációs lehetősége is sokat fejlődött az MTA keretein belül a felszabadulás óta. Az MTA újjászervezésekor biológiai kiadvány nem volt, ezzel szemben ma a Biológiai Tudományok Osztálya három idegen nyelvű és négy magyar nyelvű folyóirattal rendelkezik. Az idegen nyelven megjelenő Acta Biologica, A. Zoologica és A. Botanica elsősorban külföld felé publikálja a kutatási eredményeket, míg az Akadémia Biológiai Tudományok Osztályához tartozó Magyar Biológiai Társaság négy „Közleménye" (Biológiai, Botanikai, Állattani és Antropológiai) a magyar kutatók számára. Ezek mellett a Tihanyi Biológiai Kutatóintézet rendszeresen ad ki kutatási eredményeket összefoglaló „Évkönyvet", melynek 1964-ben 31 kötete jelent meg.

A tudományos folyóiratok mellett az Akadémia Biológiai Tudományok Osztálya könyvkiadással is rendelkezik, az elmúlt 15 évben 101 magyar szerző által írt könyv jelent meg és további 15 könyv pedig külföldi szerzők magyarra fordított munkája.

e) *Biológiai Társaságok*

Ha az eddigieknél kisebb jelentőségűek is, de különösen fiatal biológus kutatók fejlődését nagymértékben támogatják az Akadémia Biológiai Tudományok Osztályához tartozó Társaságok. Az első ilyen Társaság — a Biológiai Egyesület — 1952 márciusában alakult meg, az akkori Biológiai Tudományok Osztálya előkészítésének eredményeként, a korábbi kisebb biológiai társaságokból. Ebből az egyesületből fejlődik ki a mai Magyar Biológiai Társaság,

mely jelenleg négy szakosztállyal és hat szekcióval működik. A szakosztályok és szekciók rendszeresen megtartott ülésein 1964-ben 252 előadás hangzott el, nagyrészt fiatal kutatók részéről. E Társaság keretében vidéki egyetemi városainkban Osztályok működnek. Már 1952 májusában megalakult a debreceni Osztály, majd azt követően a szegedi Osztály.

A Magyar Biológiai Társaság előfutára az 1950-ben Szegeden megalakult „Biológus Kör" volt. Országos szinten akkor még nem volt lehetőség biológiai társaság létrehozására, azonban ezt a kezdeményezést a Biológiai Tudományok Osztálya már 1952-ben magáévá tette és előkészítette a már említett Magyar Biológiai Egyesület megalakulását.

A Magyar Biológiai Társaság elsősorban a növénytani, állattani és embertani kutatásokat fogja össze, biokémiai és biofizikai előadások nem, vagy csak ritkán szerepeltek programjában. Ezért vált szükségessé az Akadémia keretein belül biofizikai és biokémiai egyesület létrehozása is. A Biológiai Tudományok Osztálya előkészítésével 1961-ben megalakult a Magyar Biofizikai Társaság, majd 1962-ben a Magyar Biokémiai Társaság. E Társaságok vándorgyűlései és más rendezvényei jelentős mértékben elősegítik experimentális módszerekkel dolgozó fiatal kutatók fejlődését.

*

Az elmúlt időszak eredményei, kultúrpolitikánk iránya, a Biológiai Tudományok Osztályának vezetése és az alkalmazott biológiai osztályokkal (Agrártudományok és Orvostudományok) Akadémián belüli kapcsolata, továbbá Tudományos és Felsőoktatási Tanáccsal, valamint az érdekelt minisztériumokkal való jó együttműködés biztosítéka a további fejlődésnek.

A BIOLÓGIATANÍTÁS KÉT ÉVTIZEDE

KONTRA GYÖRGY

Országos Pedagógiai Intézet Biológiai Tanszék Budapest

Nincs és nem is lehet olyan elfogult ember, aki kétségbe vonhatná, hogy a biológiai közműveltség az elmúlt két évtizedben rengeteget fejlődött hazánkban. De mennyi ez a rengeteg? Melyek a tényleges fejlődés objektív mérőszámai? Ezekre a kérdésekre jóval nehezebb egzakt válaszokat találni, mint a fejlődés örvendetes tényét néhány tetszetős adattal illusztrálni.

A mennyiségi mutatók közül legkönnyebben azt az időt lehetne egybevetni, amit a tanulóifjúság az oktatási intézményekben kötelezően a biológia tanulására fordított. A múltban közzé tett adatok hiányossága és a pedagógiatörténeti kutatások ilyen jellegű fogyatékosságai azonban ezt az összehasonlítást rendkívül korlátozzák. A teljesség és hitelesség igényével csupán a 10—14 éves korosztály biológiára szánt tanulmányi idejét tudjuk ez idő szerint egymás mellé állítani. A 14 év feletti korosztályok adatait csupán közvetett és közelítő módon határozhatjuk meg.

Egy művelődési terület tanulmányozására szánt idő meghatározása az oktatási intézményekben még távolról sem azonosítható a biológiai műveltséggel. Az oktatás tartalma és az oktatási intézményeken kívüli művelődési lehetőségek számbavétele semmivel sem kevésbé fontos. És akkor még mindig csak a lehetőségeket, az üres kereteket tapogattuk körül, és még mindig kisiklott kezünkből a lényeg: mennyi realizálódott a lehetőségekből, mennyivel emelkedett két évtized alatt népünk tényleges biológiai műveltsége?

Ezeket a metodológiai nehézségeket és kétségeket azért érdemes mindjárt elöljáróban felsorakoztatni, mert ismeretükben a fejlődés ténye még evidensebb lesz szemünkben.

Lássuk a statisztikát, az óraszámokat! A mai 10—14 éves korosztály 2,5-szer több időt fordít az iskolában az élővilág tanulmányozására, mint a 30 év előtti természetrajzi stúdiumokra.

Miért vesszük összehasonlítási alapul az 1934/35-ös tanév adatait? Azért, mert erről a tanévről még nemzetközi hitelességre számottartó adatközlés maradt ránk [1], és mert az ország lakosságának száma majdnem azonos volt a maival. 1944/45-ből természetesen nincsenek adatok, az 1935—45. évekből pedig annyira változók és bizonytalanok, hogy összehasonlítási alapul nem szolgálhatnak. Egyébként az 1934/35-ös tanév a két világháború közötti idő-

szak reprezentáns adatszolgáltatójaként más figyelembe vehető szempontokból is a legalkalmasabb.

Az 1934/35-ös tanévben a 10—14 éves korosztály számára nyitva álló iskolatípusokban 18 955 332 tanórát fordítottak a természetrajz tanulására. Ebből az elemi népiskola tanulóira esett 10 318 308 óra, a polgári iskolai tanulókra 6 181 923 óra, az alsós gimnazistákra pedig 2 455 101 óra. Az 1964/65-ös tanévben az adott korosztály az általános iskola 5—8. osztályában összesen 47 166 702 órát fordít az élővilág tanulmányozására. Ma tehát 2,5-szer több az élővilág tanulmányozására szánt tanórák száma, mint amennyit a természetrajz oktatására 30 évvel korábban fordítottak.

Miből adódnak a közölt számok?

1934/35-ben a 10—14 éves lakosság száma 870 000 volt, 1964/65-ben pedig 877 600 [2]. A különbség tehát elenyésző. Ezzel szemben a vizsgált korosztályokból csak 353 525 járt iskolába (40,6%), ma viszont 714 647 (81,4%). A különbség még tovább fokozódik, ha azt is figyelembe vesszük, hogy az iskolába járó 10—14 évesek közül hányan tanultak természetrajzot egykor és hányan foglalkoznak az élővilággal ma. A két adat: 320 774 (vagyis az iskolábajárók 90,7%-a), illetve 714 647 (vagyis az iskolábajárók 100%-a).

Az elöljáróban közölt adatok kiszámításához a tanuló létszámon kívül természetesen szükség van a különböző iskolatípusok és osztályok óraszámaira és a tanév összóraszámára is. Összesített adataink ellenőrizhetősége érdekében közöljük ezeket is. Az elemi népiskola [3] V. osztályában heti 1 órát töltöttek természetrajzzal, a VI. osztályban pedig 2 órát. (VII. és VIII. osztály nem volt.) A polgári iskola [4] I. és II. osztályában egyaránt 3 volt a heti óraszám, a IV. osztályban pedig 2. A III. osztályban ilyen tárgy nem volt. A gimnáziumban [5] az I. és II. osztályban hetenként 2—2 természetrajz óra jutott, a IV-ben pedig 3. A III. osztályban itt sem volt ilyen tárgy. (Mellékesen érdemes felfigyelni arra a különösen jellemző mozzanatra, hogy a polgáristák többet tanultak természetrajzból, mint a gimnázisták, holott a gimnázium kifejezetten egyetemre, kormányzati funkcióra előkészítő középiskola volt.) A mai óraszámok ebben a korosztályban nem okoznak számítási nehézséget, mert az általános iskola 5—8. osztályában egyaránt heti 2 óra jut az élővilág megismertetésére. A tanév összóraszámát mindkét esetben 33 hetes oktatási év alapján határozhattuk meg.

Mindezek alapján teljesen hitelesen állíthatjuk, hogy a mai 10—14 éves korosztály 2,5-szer több időt fordít az élővilág tanulmányozására, mint a 30 év előtti a természetrajzra. Vitathatatlan, hogy ez az adat csak egy numerikus érték, de a fejlődésnek semmi esetre sem elhanyagolható mérőszáma. Mögötte van az iskolarendszer grandiózus fejlődése, a közoktatás demokratizálódása, a szocialista társadalmi és gazdasági rendszer kibontakozása.

A 14—18 éves korosztályra vonatkozóan mai adatainkból nem tudunk pontos összehasonlító értéket kiszámítani. Az idézett statisztikai forrás [6_

a különféle középfokú tanintézeteket és azok adatait nem differenciálja oly mértékig, hogy a mai állapotokkal maradéktalanul egybe vethető lenne. Célkitűzésünknek azonban ezúttal teljes mértékben megfelel, ha azt hasonlítjuk össze, hogy a középfokú oktatás hány diákot vezetett a felsőfokú biológiai képzésig harminc éve, és hányat ma. 1935-ben sikeres középiskolai érettségit tett 5000 jelölt, sikeres tanítói képesítőt pedig közel 2000 [7]. Akkor nem volt több olyan középfokú iskolatípus, amelyben biológiai jellegű tárgyat tanítottak. A tanítóképző elvégzése után igen kevesen jutottak egyetemre. Érettségi után elvileg nyitva állt az út az egyetem felé, de csak mintegy 2000 hallgatónak állt módjában ezzel a lehetőséggel valóban élni [8]. Azoknak a száma akik természetrajztanári, orvosi, mezőgazdasági és egyéb olyan diploma megszerzésére indultak, melyhez biológiai tárgyak tanulmányozása volt szükséges, jóval kevesebb volt 1000-nél. Azóta a felsőoktatási intézményekben felvételre jelentkezők száma óriási mértékben megnőtt, és ezen belül aránylag még nagyobb mértékben fokozódott azoknak a száma, akik olyan egyetemre vagy főiskolára jelentkeznek, mely a felvételin biológiai vizsgát követel. A közelmúltban évente átlagosan 10 000 jelölt tett biológiából felvételi vizsgát [9]. Az adatokat egybevetve tehát teljesen reálisan állíthatjuk, hogy ma tízszer annyi ifjút vezet az iskola a felsőfokú biológiai képzésig, mint harminc éve.

Íme, két reprezentatív adat, mely kétségbe vonhatatlanul igazolja a fejlődés soha nem tapasztalt gyors ütemét. Ha csak vázlatosan említünk még néhány körülményt, a kép még kedvezőbb lesz. A gimnáziumban a biológia 4 éves tárgy volt évekig, és az lesz a jövőben is (néhány átmeneti évben a tárgy 3 évre csökkent). Fakultatív érettségi tárgy, melyet sok diák választ. A mezőgazdasági technikumokban és szakközépiskolákban alaptárgy, az ipari, kereskedelmi és közgazdasági technikumok és szakközépiskolák közül is sokban folyik az oktatása és a tervek szerint jövőben minden középfokú intézménybe be fogják vezetni. A dolgozók általános és középiskoláiban sok tízezren tanulnak biológiát. A gimnáziumokban egyre több speciális osztály nyílik, melyben a biológiát elmélyültebben tanulmányozzák. A felsőoktatási intézmények 44%-ában folyik biológiai képzés. A természettudományi karokon a biológia-földrajz-szakos tanárképzés mellett egyre nagyobb arányban kap helyet a mai követelményeknek jobban megfelelő biológia-kémia szak. Újra megindult a szak-biológusok képzése és növekszik az egyetemi doktorátusok száma is. Az orvosegyetemeken önálló tanszékek alaptárgyként oktatják az általános biológiát, a mezőgazdasági, állatorvosi egyetemeken és még számos felsőoktatási intézményben szintén fontos helyet kap a biológia oktatása.

A mennyiségi adatokat tekintve objektíven megállapítható, hogy a tárgy alsó- és középfokú oktatása a nemzetközi élvonalba került, és felsőfokú oktatása is felülmulja a civilizált országok átlagát.

A számok természetesen csak a kereteket érzékeltetik, a művelődés tartalmára vonatkozóan semmit sem mondanak. A fejlődés ezen a téren is

nagyarányú. Alsó- és középfokon a biológia önállósult a természetrajztól. A növény és állattan tárgya a korábbi túlnyomóan morfológiai és szisztematikai ismeretanyag mellett fiziológiai, ökológiai, onto- és filogenetikai stúdiumokkal bővült, sőt ez utóbbiak kerültek túlsúlyba. Az ember szervezetének tanulmányozása megfelelő időt kapott. Közegészségügyi szempontból elsődleges fontosságú, hogy minden általános iskolát végzett gyerek rendszeres személyi és középegészségügyi képzésben részesül [10, 11]. A gimnáziumban magasszintű funkcionális anatómiai ismeretekhez kapcsolva bevezetik a munkaélettan és az általános munkaegészségtan tárgyalását. A modern sejttan, örökléstan és származástan az új tanterv [12] szerint a IV. gimnázium anyaga.

A tanórák számának és a tanítás anyagának változásait igényes tantárgytörténeti tanulmány alapján 1777-től napjainkig áttekinthetjük [13]. Ebből kitűnik, hogy iskolatörténetünkben nincs olyan periódus, mely akkora és oly nagy jelentőségű változásokat hozott volna, mint az 1946. évi általános iskolai [14], valamint az 1950. évi általános iskolai [15] és gimnáziumi tanterv [16].

Mindennél jelentősebb volt azonban a szemlélet megváltozása. A teleologikus magyarázó elv egyeduralmát megtörte a kauzális szemlélet, az antropomorfizációt felváltotta a jelenségek objektív leírása, a mechanisztikus analógiák helyébe az összefüggések dialektikus feltárásának igénye lépett. Az idealista teóriák, a biológisztikus nézetek és a fasiszta fajelméletek kiszorultak.

A szemlélet változását a tankönyvek elemzéseiből olvashatjuk ki. Jellegzetesek a háború előtt megjelent tankönyveknek alábbi megállapításai.

„A rendszertanban a környezethatás alig látható, *fejlődéstant alig képvisel.*" „Az öröklestani szabályok az ember, sőt a társadalom életében is döntő jelentőségűek. Itt kimondottan érvényesül az *idealista szemlélet.* (Az isteni törvények betartása az alapja a nemzet életképességének.)" [17]. „Az új anyag tárgyalásának megkezdése előtt »A magyar tájak élete« címen előhangszerű érzelmi bevezetőt adnak a szerzők. »Ha ezt az életteret egyszer megismertük, csak akkor ébredhet fel bennünk igazán az a magasztos érzés, hogy a nagy világon ezen a kis helyen kívül a mi számunkra másutt már hely nincs, és akár áld vagy ver is bennünket a sors keze, de minekünk csakis itt érdemes élni és meghalni.« Íme ismét jelentkezik, mint az I. osztályos könyvben, a nacionalista magyarkodás." [18]. „A tiszta rassz fenntartása érdekében a tankönyv a *fasiszta ideológiának* megfelelő elveket vall: «Az emberi társadalmat a népi és nemesi osztályok kifejlődésében a tudat alatti pozitív eugenikára törekvés sarkallta. Ugyanezt a célt szolgálta és szolgálja a kiválóak nemesi rangra emelése, *a vitézzé avatás.* Az osztályrendszerek a fajta egészsége szempontjából értékesek.» Ez a tankönyv egyike azoknak, amelyek a második világháború előkészítésének tudományos és ideológiai eltévelyedéseit visszatükrözik" [19]. Összegező értékelésként elfogadhatjuk az alábbi megállapítást: „A tanulók valóságnak megfelelő, önálló gondolkodásának kialakítása terén voltak a legnagyobb hiányok. Ehelyett — amint láttuk — vallásos, vagy legfeljebb erősen emberközpontú, teleológikus irányzatú nevelés folyt. Így azután a tanulók kikerülve az iskolából, a különféle jelenségekkel, problémákkal szembe kerülve, nemigen tudtak eligazodni." [20]

Mindezekkel kiáltó ellentétben vannak az alább következő megállapítások, melyek a háború után láttak napvilágot.

„Különösen ki kell emelni, hogy a társadalmi fejlődéssel karöltve fejlődő iskolai feladatrendszer megvalósítása nagyon támogatja a tanulók önálló gondolkodásra, az összefüggések

felismerésére, a tanulságok alkalmazására irányuló nevelő itevékenységet" [21]. „Az általános iskola megalkotása, a művelődési monopólium megszüntetése, az iskolának közelebb viteel az élethez, a szocializmus tudományos elméletéből folyó dialektikus materialista világnézet kialakításának nevelési normája, s a kultúrpolitikánkat jellemző egyéb életszerű elvek a biológia tantárgyat minőségileg új szituációba helyezték" [22].

A szemléletbeli változás nem ment végbe a tantervek életbelépésének pillanatában és nem is volt probléma-mentes. Számos körülmény segítette közvetlenül és néhány zavaró momentum hátráltatta a kívánatos átalakulást. Rendkívül nagy segítséget jelentett a *szovjet iskolarendszer* példája, melyben a biológia már régóta teljes jogú tárgy. Konkrét támogatást nyújtottak a szovjet tantervek, tankönyvek és módszertani munkák. Sok haszon származott a tárgyra nézve az általános kultúrpolitikai iránymutatásokból és a hazai tudományos közvélemény átalakulásából. Többször gyakorolt lényeges hatást az a tény, hogy a Magyar Tudományos Akadémia illetékes szervei már 1952-től kezdve figyelemmel kísérték és aktívan befolyásolták a tárgy kibontakozását. Az ifjúsági szervezetek tevékenysége is serkentette a művelődést [23]. A Tudományos Ismeretterjesztő Társulat és elődei pozitíven hatottak kiadványaikkal és rendezvényeikkel. Az oktatás színvonalának emelkedését közvetlenül elősegítették a tanítási órákon kívüli alkalmak, a biológiai szakkörök, a lassanként gyarapodó szemléltető eszközök, pergőfilmek és diasorozatok, módszertani segédkönyvek. Döntő volt a tanárképzés átalakulása, a tanárok továbbképzésének számos alkalma, és a szakfelügyeleti hálózat kiépülése. A szakfelügyelők és továbbképzési munkaközösségvezetők évről-évre nagy számban vettek részt a TIT által rendezett Országos Biológus Napokon és a Magyar Biológiai Társaság vándorgyűlésein. *A Biológia Tanítása* c. hivatalos módszertani folyóirat (illetve annak elődje *A Természettudományok Tanítása)* mellett a szakmai továbbképzést tervszerűen támogatta az *Élővilág* c. folyóirat és tanár, diák egyaránt jó hasznát vette a TIT többi lapjának, a *Búvár*nak, a *Természettudományi Közlöny*-nek és az *Élet* és *Tudomány*nak is. A rádió és újabban a televízió kifejezetten az iskolai biológia oktatáshoz kapcsolódó sorozatokat tűzött napirendre. A népszerű tudományos filmek is közvetlenül segítik a biológia tanítását. Nagyon fontos szerepet játszik a könyvkiadás, amely olyan nem hivatalos segédkönyveket adott a tanításhoz, mint az *Erdő, mező virágai* (Mezőgazdasági Kiadó), a *Képes Állatvilág* (Móra Ferenc Ifjúsági Kiadó) vagy *Az emberi test* (Gondolat Kiadó).

A pozitívan ható tényezők vázlatos felsorolásából is kitűnik, hogy a tárgy kibontakozását milyen sok kedvező körülmény serkentette. Lényeges hatást gyakoroltak azonban a negatív mozzanatok is. Leginkább a múlt öröksége húzott visszafelé. A kritikai elemzések igen gyéren születtek és nem mindig voltak elég objektívek. A fejlődést zavarták azok a nézetek is, melyek legutóbb így nyertek találó megfogalmazást: „Igen sok jó szándékkal, de nagyon súlyos hibákkal indult az oktatásügy területén a biológia tanításában az új lehetőségek kihasználása és a hiányok pótlása. Évekig tartott, amíg az itt

felbukkant zűrzavar, amiben a maximalista szakmai követelmények, ideológiai tájékozatlanság, pedagógiai tévedések, didaktikai szempontok figyelmen kívül hagyása és sok más tényező volt a hibás — lassan tisztulni kezdett. Ekkorra azonban szakmai területen jelentek meg a nehézségek, amiket a személyi kultusz idején előtérbe került dogmatikus állítások és azoknak a tudomány haladását észre venni nem akaró, sokszor erőszakos és még tudományos ellenérveket sem tűrő interpretációja okoztak" [24].

Hátrányt jelentett a biológia tantárgy-pedagógiájának elhanyagolt állapota is. Sok érdemleges részlet-eredmény látott nyomdafestéket, de rendszeres, tudományos igényű kutatás szinte alig folyt. Csak legutóbb érezhető némi éledés e területen, a 67-es fő feladat 32. pontjával [25] kapcsolatban, a Magyar Biológiai Társaság Didaktikai Szekciójában [26], a tanárképző intézmények módszertani munkáiban [27].

Központi jelentősége volt a hátráltató tényezők között annak, hogy a tanárképzés objektív okok miatt nem tudta kielégíteni a vele szemben támasztott igényeket. Amikor az 1950-es tantervek életbe léptek, egy csapásra több és egészen más képzettségű szaktanárra lett volna szükség, mint amennyi volt. Ebből adódott, hogy az általános iskola felső tagozata számára éveken keresztül ezrével kellett nyári tanfolyamokon tanítókból általános iskolai szaktanítókat, majd szaktanárokat képezni. A gimnáziumi tanárhiányt idegen nyelv szakos, ének- és rajztanárok nyári átképzésével igyekeztek pótolni. Az átképzés eleve sok fogyatékossággal járt, kétségtelen azonban, hogy a részt vevő pedagógusok odaadó munkája lényegesen hozzájárult nemcsak a tanárhiány enyhítéséhez, hanem a tartalmi követelmények megvalósításához is. A pedagógiai főiskolák kezdettől fogva az általános iskolai tanterv célkitűzéseinek megfelelően képezték a tanárokat, a tudományegyetemek azonban a dolog természeténél fogva csak lassabban voltak képesek a gimnázium szükségletei felé orientálódni. A növény- és állatrendszertani, morfológiai túlsúllyal jellemezhető egyetemi intézetek lassanként differenciálódtak, és fokozatosan jöttek létre élettani és egyéb tanszékek. A differenciálódás folyamata ma is tart, hiszen nem maradhat fenn sokáig az az állapot, hogy egyetlen természettudományi kar sem rendelkezik biokémiai vagy biofizikai intézettel. A mindvégig magasszintű szakmai oktatáshoz sajnos lényegesen alacsonyabb színvonalú módszertani képzés járult. Ezen a téren a szakmódszertani előadók és a gyakorló iskolák tevékenysége folytán tapasztalható előrehaladás. A szaktanárhiány sajnos még ma sem szűnt meg.

Sok vonatkozásban okoztak problémát a két évtized alatt megjelent tankönyvek is. Bár nem vonható kétségbe ezeknek a tankönyveknek az a rendkívül nagy jelentősége, hogy sok esetben olyan ismeretanyagot dolgoztak fel, amelyre addig nálunk még soha sem került sor, és világnézeti szempontból is általában megfelelőek voltak, mégis meg kell állapítani, hogy többnyire túlzsúfolták az ismeretanyagot, és a tankönyvi maximalizmus az évek

folyamán meglehetősen lassan enyhült. Ennek természetesen az is oka volt, hogy 1950 után a heti óraszámokat többször csökkentették, és a több órára írt tankönyveket kellett a kisebb óraszámhoz igazítani. A didaktikai feldolgozás gyakran túlbecsülte a tanulók fejlettségét, és a technikai kivitelezés is csak 1963-tól kezdve javult lényegesen, igaz, hogy akkor nagymértékben.

A fejlődést hátráltató körülményeket az 1962-ben elrendelt és 1963-ban kiadott általános iskolai tanterv és a vele meginduló reform küszöböli ki. A most megjelent gimnáziumi tanterv fő célkitűzése, hogy a tanulók leíró és összehasonlító képességét oknyomozó-kísérletező képességgé fejlessze tovább. Az eddigi reformtörekvések szinte kivétel nélkül az ismeretanyag kiválasztására fordították figyelmüket. A napjainkban megvalósuló reform is nagy gondot fordít a tananyag szelektálására, de központi jelentőségűnek azt tartja, hogy a kutató módszereket, a deszkriptív, komparatív, experimentális és evolúciós metodikát a tanulók fejlődéslélektani jellegzetességeiknek megfelelően jártasság, illetve készség fokán elsajátítsák.

Meggyőződésünk, hogy a sok nagy eredményre és zavaró körülményre való visszapillantás hozzásegít bennünket ahhoz, hogy a jövő generációkban kialakuljon az élő természet tudományos megismerésére irányuló vágy és képesség. Közoktatásügyünk 20 éves fejlődése [28, 29, 30] és az erre alapuló reform perspektívái teszik érthetővé és indokolják tárgyunk központi célkitűzését. A biológiai műveltség színvonalának emelése szervesen hozzá tartozik az egész közoktatás fejlődéséhez és ezen túl népünk általános felemelkedéséhez.

IRODALOM

1. Magyar Statisztikai Szemle, Hungaria, 1938. Magyar Királyi Központi Statisztikai Hivatal, Budapest.
2. A Művelődésügyi Minisztérium és a Központi Statisztikai Hivatal közlése.
3. l. i. m. 196—197. p.; tanterv.
4. l. i. m. 196, 199. p.; tanterv.
5. l. i. m. 196, 199. p.; tanterv.
6. l. i. m. 199. p.
7. l. i. m. 200. p.
8. l. i. m. 200. p.
9. Művelődésügyi Minisztérium közlése.
10. Tanterv az általános iskolák V—VIII. osztálya számára, Tankönyvkiadó, Budapest, (1958).
11. Tanterv és utasítás az általános iskolák számára, Tankönyvkiadó, Budapest, (1963).
12. Tanterv és utasítás a gimnáziumok számára, Tankönyvkiadó, Budapest, (1965).
13. Noga Tibor: A magyarországi gimnáziumi természetrajz-oktatás feladatának vázlatos története (1879—1959), a Tantárgytörténeti tanulmányok c. gyűjtemény II. kötetében, 409—520. p. Tankönyvkiadó, Budapest, (1963).
14. A vallás- és közoktatásügyi miniszter 75000/1946. VKM sz. rendelete az általános iskola tantervének életbeléptetéséről, Magyar Közlöny, **157.** sz. (1946.)
15. A vallás- és közoktatásügyi miniszter E. 1220—10/1950. VKM sz. rendelete az általános iskolák új óratervének és tantervének bevezetéséről, Köznevelés, **17.** sz. (1950.)
16. A vallás- és közoktatásügyi miniszter E. 1280—10/1950. VKM sz. rendelete az általános gimnázium új óratervének és tantervének bevezetéséről, Köznevelés, **17.** sz. (1950.)
17. 13. i. m. 459. p.
18. Barna Béla: A Horthy-korszak középiskolai biológiai tankönyveinek kritikai elemzése, PTI dokumentációs anyag, Országos Pedagógiai Intézet Könyvtára, **87.** sz., 79. p. 1955.

19. 18. i. m. 102—103. p.
20. Jakubovits Elek: A 10—14 éves gyermekek értelmi nevelése a Horthy-korszak biológiai tankönyveiben a Magyar neveléstörténeti tanulmányok c. kötetben, Tankönyvkiadó, Budapest, (1959). 185—204. p. 204. p.
21. 13. i. m. 507. p.
22. 13. i. m. 510. p.
23. Éhik Györgyné (szerk.): Biológus szakpróba, KISZ-próbakönyvek, Budapest, 1—120. p. (1963).
24. Kiszely György: A biológia 20 esztendeje hazánkban, Búvár c. folyóirat, 67—71. p. (1965).
25. Országos Távlati Tudományos Kutatási Terv 67. „A szocialista neveléstudomány alapkérdései, az ifjúság szocialista szellemben történő nevelésének fő problémái" c. kutatási főfeladat, 32. téma: A tantárgyi módszertan.
26. A Szekció üléseiről A Biológia Tanítása c. folyóirat 1964. 2. számától kezdve beszámolók jelennek meg.
27. Pl. Szegedi Tanárképző Főiskola Módszertani Közlemények c. folyóirata; évkönyvek, jegyzetek.
28. Szarka József: A szocialista pedagógiai gondolat hazai fejlődése, Pedagógiai Szemle c. folyóirat, 1965. ápr.
29. Simon Gyula: 20 év a magyar iskolaügyben, 1945—65. Pedagógiai Szemle, c. folyóirat, 1965. ápr.
30. A szocialista iskolaügyünk fejlődését szabályozó fő intézkedések, Pedagógiai Szemle, 1965. ápr.

A NÖVÉNYBETEGSÉGEK ÉS A NÖVÉNYI BETEGSÉGELLENÁLLÓSÁG ENZIMOLÓGIAI VONATKOZÁSAI

FARKAS GÁBOR

Akadémiai székfoglaló előadás

Mielőtt előadásom címben jelzett, tulajdonképpeni tárgykörére részleteiben rátérnék, szükségesnek látszik röviden visszapillantani a növénykórtan fejlődésének néhány fő mozzanatára.

A tudományos növénykórtan története alig több, mint egy évszázadra nyúlik vissza. A XIX. század közepéig még az a nézet uralkodott, hogy a beteg növényeken és növényi részeken található mikroorganizmusok spontán keletkeznek a beteg szövetek anyagából. ANTON DE BARY mutatta ki 1853-ban, hogy a helyzet fordított: a gabonafélék üszög- és rozsdabetegségeit pathogén gombák okozzák. Jóval később ismerték fel, hogy baktériumok is lehetnek növényi kórokozók (BURRILL 1878), a vírusbetegségek tanulmányozásának korszaka pedig IVANOVSZKIJ klasszikus felfedezésétől (1892), még későbbi időponttól számítható (KEITT, 1959).

A fenti dátumok természetesen csak a kezdet kezdetét jelentik. A kérdéses vizsgálatok csupán a lehetőséget adták meg a növénybetegségek egzakt módszerekkel való kutatása számára.

A betegséget úgy definiáljuk, mint abnormális fiziológiai folyamatot (folyamatokat). Ennek ellenére a növénykórtanban a fiziológiai irány kialakulása sokáig váratott magára. Igaz, hogy voltak igen korai kezdeményezők. Így DE BARY 1886-ban a sárgarépa Sclerotiniá-s megbetegedésének vizsgálata során megállapította, hogy a megtámadott szövetek gombamentes kivonata képes az egészséges szöveteket károsítani és hogy e károsító hatás a kivonatok felforralásakor eltűnik. DE BARY lényegében a kórfolyamatban szereplő növényre káros enzimatikus hatásokat mutatott ki és ebben az értelemben a mai enzimológiai irányzat előfutárjaként tekintjük a növénykórtanban. A növénybetegségek enzimológiai vonatkozásait kutató legelső biokémikusok között találjuk DOBY GÉZÁT is az 1910-es években, aki egyedülálló munkát végzett ezen a területen. A világháború előtt DOBY GÉZÁN kívül legfeljebb egy-két kutatót ismerünk, aki biokémiai-enzimológiai problémafelvetéssel közeledett a növénybetegségek problematikájához. A növényélettani-biokémiai módszerek és szemlélet igazi betörése a növénykórtan területére az 1950-es évekre esik és azóta egyre nagyobb intenzitással tovább tart.

A mai előadásnak az a célja, hogy ismertesse a növénykórtan e modern irányát, különös tekintettel a hazai kutatási eredményekre. A mai munka fő hangsúlya, mint látni fogjuk, azoknak a regulációs mechanizmusoknak a keresésére esik, amelyek biztosítják, hogy két egymástól rendszertanilag oly távol álló szervezet, mint egy magasabbrendű növény és egy mikroorganizmus anyagcsererendszerei, legalábbis a parazitizmus első szakaszában nagymértékben összehangoltan működjenek. E kezdeti anyagcsere-összehangoltság, ill. összehangolódás biztosítja az ún. fogékony gazda-parazita kapcsolat létrejöttét. A gazda és a parazita anyagcsererendszerei közötti kompatibilitás teljes hiánya, vagy az anyagcsererendszerek közötti kompatibilitásnak a betegség folyamán való kialakulása biztosítja a rezisztenciát. A gazda-parazita kapcsolat ilyen jellegű „szabályozódása" nagyrészt olyan mechanizmusokon keresztül megy végbe, amelyek a növényvilágra specifikusaknak látszanak. Ugyanakkor, mint később részletesen tárgyaljuk, vannak az élőlények védekezési mechanizmusának általános vonásai is, amelyek az állat- és növényvilágban közösnek vagy legalábbis hasonlóaknak tűnnek.

Az 1950-es évek egyik legfontosabb felismerése az volt, hogy a beteg növényi szövetek légzésintenzitása általában megemelkedik. Azt lehet mondani, hogy a serkentett, ún. „parazitogén" légzés a beteg növényi szöveteknek ugyanolyan gyakori, általános jellemvonása, mint a beteg emberi szervezetnek a hőmérsékletemelkedés. Érthető, hogy igen sok kísérletet folytattak annak a kiderítésére, hogy honnan ered a serkentett ún. parazitogén légzés, és van-e szerepe a növényi immunitásban, más szóval a növények kórokozókkal szembeni védekezési reakciójában. Ebbe a témakörbe kapcsolódtak be annak idején saját vizsgálataink is.

Az elmúlt 10 esztendő alatt a fenti kérdéskomplexumban sok minden tisztázódott. Elvileg adva volt két fő lehetőség a légzés sebességét szabályozó tényezőkkel kapcsolatban: 1. A PO_4^{-3}-akceptorok mennyiségének változása (ATP/ADP-arány) 2. A légzés folyamatában résztvevő enzimek mennyiségének változása. Kiderült, hogy a parazitogén légzésfokozódás előidézésében mindkét folyamat szerepel, ill. szerepelhet. Ami az első tényezőt illeti, az a kép alakult ki, hogy a fertőzés következtében kialakuló kórfolyamat növényeknél általában ATP fogyasztással jár. A betegség korai szakaszában a szintetikus folyamatok a fő ATP fogyasztók (Heitefuss és Fuchs 1962), míg a későbbi szakaszokban az ATP hidrolitikus lebontódása, ill. a légzésfolyamat ATP-termelés szempontjából „haszontalanná" válása (uncoupling) a döntő tényező (Farkas és Király 1956; Pozsár és Király 1958). Mindkét folyamat lényegében magasabb ADP-szinthez vezet, amely mint foszfát-akceptor a légzés sebességét emeli.

Az ATP/ADP arányon kívül úgy látszik a változó enzim-koncentrációnak is lehet szerepe a parazitogén légzés-stimulációban. Noha az enzimkoncentráció légzésintenzitást szabályozó szerepe általában kísérletileg kevésbé alátámasz-

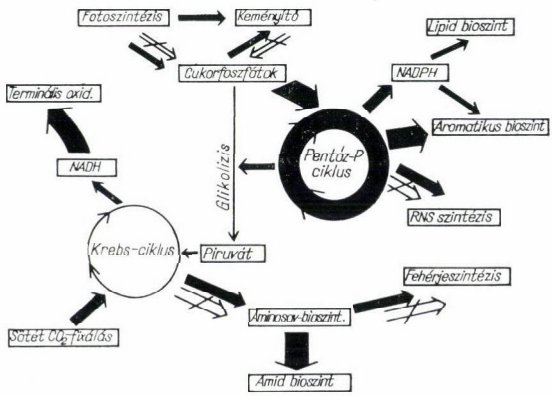
tott tény, mint az ATP/ADP arányé (mert kevéssé ismerjük a limitáló enzimeket és enzimkoncentrációkat) az a tény, hogy igen sok oxidatív enzim aktivitása megnő a fertőzött szövetekben, legalábbis elgondolkoztató az emelkedett légzésintenzitás és a megnövekedett enzimszint lehetséges kapcsolatát illetően.

Viszonylag kevés vizsgálat történt arra nézve, hogy az enzimek aktiválódásának a menete mennyire egyezik meg a légzésaktiválódás menetével. A rendelkezésre álló adatok mindenesetre meglehetősen nagyfokú parallelitásra és valamilyen természetű okozati összefüggésre utalnak (KIRÁLY és FARKAS 1957, LUNDERSTÄDT 1964).

A légzés aktiválódásán kívül van a növénybetegségeknek egy másik igen fontos biokémiai jellemvonása, amely általánosan elterjedt: az anyagcsere „aromatizálódása". Ez utóbbi azt jelenti, hogy az aromás vázzal rendelkező vegyületek nagymértékben halmozódnak fel a beteg növényekben (FARKAS 1962; FARKAS és KIRÁLY 1962). Tekintve, hogy az aromás vegyületek egy jelentős csoportja, elsősorban a polifenolok és oxidációs termékeik, általában fungitoxikus és baktericid tulajdonságúak, az a felfogás alakult ki, hogy a beteg növény serkentett polifenol-szintézise mintegy biokémiai védekező reakcióként fogható fel. A gondolat kiinduló magja nagymértékben SZENT-GYÖRGYI nevéhez fűződik, aki azt találta, hogy a burgonyagumó megsértése esetén erős polifenol-polifenoloxidáz reakció indul meg, amely az intakt szövetekben nem, vagy alig játszódik le. SZENT-GYÖRGYI feltételezte, hogy a növényvilágban oly elterjedt polifenoloxidázok szerepe éppen az lehet, hogy antimikrobiális hatású polifenoloxidációs termékeket hoznak létre, amikor a kórokozó a szöveteket károsítja (SZENT-GYÖRGYI és VIETORISZ 1931).

Kérdés, van-e összefüggés a beteg növényi szövetekre egyaránt jellemző parazitogén légzésemelkedés és serkentett aromatikus bioszintézis között? Az elmúlt 6—8 év kísérleti eredményei alapján erre a kérdésre igennel válaszolhatunk. Kiderült, hogy a beteg szövetek légzésének nem csupán az intenzitása, hanem biokémiai mechanizmusa is eltér az egészséges szövetekétől (1. ábra). A beteg szövetek légzésének erős malonát-rezisztenciája (FARKAS és KIRÁLY 1955), a glukózlebontás magas C_1/C_6 aránya (SHAV és SAMBORSKI 1957) és a beteg szövetekben mindig megmutatkozó nagyobb glukóz-6-P dehidrogenáz aktivitás (FARKAS, LOVREKOVICH és KLEMENT 1963) bizonyíték arra nézve, hogy a beteg szövetek légzésére jellemző a pentóz-foszfát sönt intenzitásának megnövekedése. Az pedig ismeretes, hogy az aromatikus bioszintézis intermedierjeit, legalábbis részben, a pentózfoszfát ciklus termeli (NEISH 1960). A fentiek alapján tehát okozati összefüggés mutatható ki az enzimológiai változások, a légzésintenzitás élénkülése, a légzés útjának a pentózfoszfát ciklus felé tolódása és az aromás vegyületek felhalmozódása között a beteg növényekben. Amennyiben tehát a fenolok felhalmozódása a kóros növényi szövetekben (antimikrobiális tulajdonságaiknál fogva) védekezési reakció, maga a

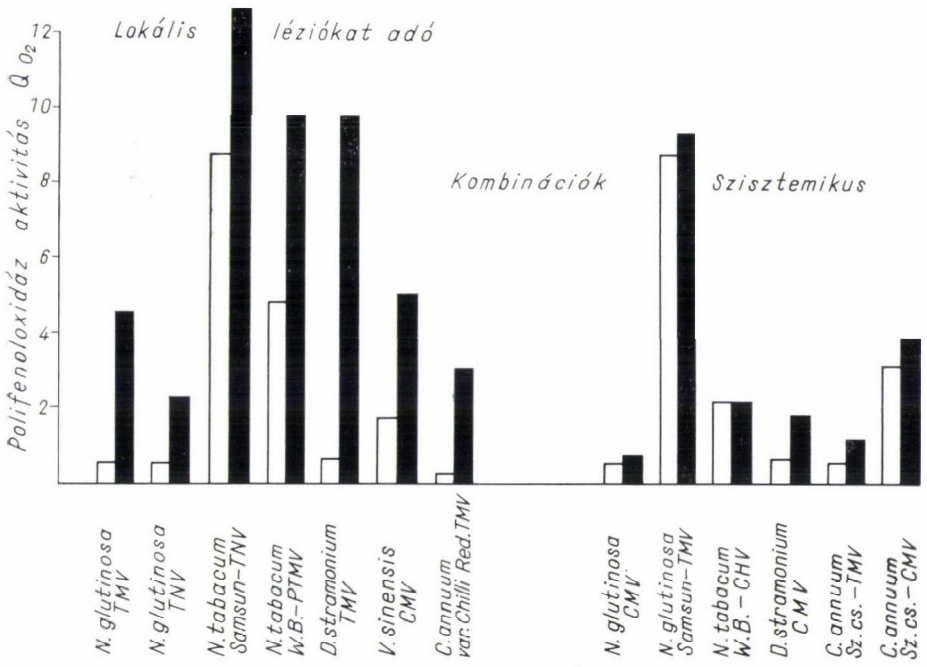
folyamat úgy látszik elsődlegesen enzimológiai változásokra vezethető vissza, nevezetesen a pentóz-foszfát sönt kulcsenzimének, a G-6-P dehidrogenáznak az aktiválódására. Érdekes megemlíteni, hogy egymástól függetlenül mutatták ki növényi (FARKAS és SOLYMOSY 1962, SOLYMOSY és FARKAS 1962) és állati szervezeteken (ISAACS 1963) a pentóz-foszfát út aktiválódását vírusfertőzés hatására. Úgy látszik a pentóz-foszfát sönt aktiválódása a betegségek egészen széles skálájára érvényes jelenség és nem korlátozódik a növényvilágra.



1. ábra. A beteg növényekben bekövetkező anyagcsereváltozások vázlatos ábrázolása. A fekete nyilak és azok vastagsága jelzi a kérdéses folyamat erősödését, valamint az erősbödés mértékét a beteg növényben a kontroll szövetekhez viszonyítva. Az áthúzott fehér nyilak jelzik a kérdéses folyamat intenzitásának csökkenését a beteg növényben a kontrollhoz viszonyítva. Fekete és fehér nyíl egy idejű jelenléte arra utal, hogy a változások jellege a különböző betegségeknél eltérő

Az enzimaktiválódás ténye tehát alapvetően fontos kérdésnek tűnik, amelynek természetét meg kell ismernünk. Mielőtt azonban a beteg növényben észlelt nagyobb enzimaktivitások természetével foglalkoznánk, lássunk néhány bizonyítékot arra, hogy a polifenoloxidáció valóban jelentős lehet a betegségellenállóság szempontjából. A betegségellenállóság és polifenoloxidáció kapcsolatát legszebben a növényi vírusbetegségek vizsgálata során sikerült igazolni (SOLYMOSY, FARKAS és KIRÁLY 1959, FARKAS, KIRÁLY és SOLYMOSY 1960). Kimutattuk, hogy amennyiben valamely gazda-vírus kombináció rezisztens, azaz a vírus szaporodása lokális lézió képződése mellett kisebb sejtcsoportra lokalizálódik (hiperszenzitív reakció), a megbetegített gazdaszövetek polifenoloxidáz aktivitása erősen megnő. Kicsiny vagy jelentéktelen polifenoloxidáz aktiválódás észlelhető akkor, ha a vírus szisztematikusan elterjed az egész növényben (fogékony reakció) (2. ábra). A polifenol-polifenol-oxidáz rendszer kórélettani szerepét az a megfigyelés is alátámasztja, amely szerint redukáló vegyületek, melyek a képződött toxikus polifenoloxidációs termékeket visszaredukálják, a lokális léziók képződését vírusfertőzött növényekben gátolják (FARKAS, KIRÁLY és SOLYMOSY 1960).

A fentieken kívül egyéb adatok is bizonyítják a polifenol-polifenoloxidáz rendszer, és általában az aromatikus bioszintézisek jelentőségét a növényi betegségellenállóság szempontjából (RUBIN 1960, FARKAS és KIRÁLY 1962, CRUICKSHANK 1963). Természetesen ez nem jelenti azt, hogy a polifenol-polifenoloxidáz rendszer az egyetlen jelentős tényező e tekintetben.



2. ábra. A polifenoloxidáz aktiválódása különböző gazda—vírus kombinációk esetében

Az elmondottakból világos, hogy a gazda-parazita kapcsolat alakulását illetően egyrészt a paraziták behatolása és elszaporodása által indukált polifenol-bioszintézis, másrészt az oxidatív enzimek aktiválódása, illetőleg e két folyamat kapcsolata döntő fontosságú. Magáról az indukált polifenol bioszintézisről is kimutatható, hogy abban enzimaktiválódások fontos szerepet játszanak (FARKAS 1962, URITANI 1964). Következésképpen felvetődik a kérdés, hogy mi a polifenolok bioszintézisében, a polifenolok oxidációjában és egyéb oxidatív folyamatokban résztvevő enzimek nagyobb aktivitásának (mennyiségének?) magyarázata a beteg szövetekben.

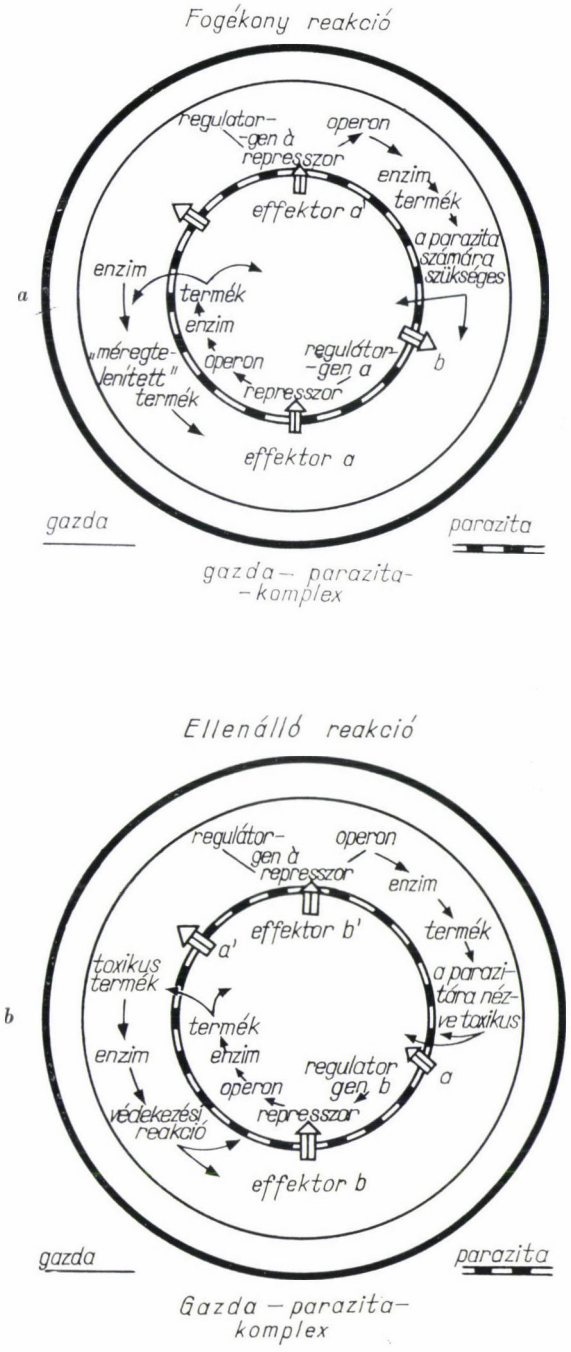
Ez a kérdésfelvetés mindössze 2—3 éves múltra tekinthet vissza, s lévén ennyire új, természetesen a modern biológia jellegzetes irányzatának, a molekuláris biológiának a hatása alatt áll. Az emelkedett enzimszintet, amely esetenként több száz százalékos aktivitásnövekedést is jelenthet, elsősorban a molekuláris biológia eddigi eredményei alapján akarják megmagyarázni. Ezt

ábrázolja a 3. ábra, amely egy 1964 nyarán tartott nemzetközi szimpozium anyagából való (HEITEFUSS 1964). Mint az ábrából is kitűnik, a gazda és a parazita kölcsönhatását úgy igyekeznek megmagyarázni, hogy a gazdasejtekből a parazita felé, a parazitából pedig a gazdasejtek felé „effektor" anyagok diffundálnak, amelyek a represszorok szintjén fejtik ki hatásukat és a legátolt operonok működésének megindítása útján (fokozott) enzimszintézist tesznek lehetővé. A megnövekedett enzimszintézis eredményeképpen keletkezhetnek olyan anyagok, amelyek a parazita fejlődését elősegítik vagy esetleg olyanok, amelyek a parazitára nézve toxikusak (pl. fenolok). A fogékonyság vagy ellenállóképesség kérdését tehát az döntené el, hogy a kérdéses kórokozók (törzs) a gazdába behatolva milyen számukra kedvező vagy kedvezőtlen új anyagcserefolyamatokat tudnak indukálni, illetve milyen meglevő anyagcserefolyamatokat tudnak felerősíteni vagy gyengíteni.

Nézzük meg milyen kísérleti tények szólnak a fenti interpretáció mellett.

1. Először is tény, hogy a növényvilágban a betegségellenállóság vagy fogékonyság (eltekintve egy bizonyos külső körülmények által meghatározott diszpozíciótól) általában nem az egészséges növény valamely már eleve meglevő kialakult tulajdonsága. Az ellenállóképességet biztosító biokémiai mechanizmusok legtöbb esetben csak a fertőzés hatására a fertőzött növényben aktiválódnak. Ebben a tekintetben (általánosságban) a növényi immunitás tehát az emberi és állati aktív immunitással rokon vonásokat mutat. Ezt a megállapítást támasztja alá a kórokozók ún. fiziológiai specializáltsága, ami azt jelenti, hogy pl. a búza feketerozsdájának több száz ún. fiziológiai rassza van, amelyekkel szemben a különböző búzafajták eltérő mértékben fogékonyak. A helyzet nem az, hogy vannak ún. virulens rasszok, amelyek minden búzafajtát megtámadnak és kevésbé virulensek, amelyekkel szemben kevesebb fajta fogékony, hanem pl. „A" fajta lehet fogékony az 1. sz. rasszal szemben, de rezisztens a 2. sz. rasszal szemben; ugyanakkor „B" fajta fogékony a 2. sz. rasszal szemben, de ellenálló az 1. sz. rasszal szemben. Nyilvánvaló, hogy az ellenállóság tulajdonságáról csak egy-egy konkrét gazda-parazita komplexre vonatkoztatva beszélhetünk, azaz a rezisztencia potenciálisan meglevő mechanizmusa egy-egy meghatározott gazda- és parazita-anyagcseretípus találkozása esetén realizálódik: *a rezisztencia a fertőzés hatására indukálódik!* Ezek a viszonyok nemcsak a gabonarozsdák speciális sajátosságai, hanem igen elterjedtek a növényvilágban, az obligát parazitákra nézve pedig (a vírusokat beleértve) általánosan jellemzőek. Végeredményben tehát a rezisztencia biokémiai mechanizmusát a kórokozó behatolása indítja meg, úgy ahogy azt a fent jelzett séma posztulálja.

2. A rezisztencia, ill. fogékonyság genetikai analízise számos gazda-parazita komplex esetében az ún. „gene-for-gene" elmélethez vezetett (PERSON 1959). Ez az elmélet azokra a kísérleti eredményekre alapul, amelyek szerint ha a gazdanövény rezisztenciáját vagy fogékonyságát egy faktor hatá-



3. ábra. A gazda-parazita kapcsolat értelmezése molekuláris biológiai fogalmak alapján (HEITEFUSS után)

rozza meg, e faktor hatásával kapcsolatos, rokontermészetű gén van jelen a kórokozóban is és ez az egy faktor szabályozza, hogy fogékony vagy ellenálló típusú gazda-parazita kombináció jön-e létre. Ha a gazda rezisztenciája bifaktoriális, a kórokozóban is 2 megfelelő gén van jelen, amelyek a gazda-parazita kapcsolat jellegét szabályozzák stb. E kísérleti megfigyeléseken alapuló eredmények jól értelmezhetők fejlődéstörténeti vonatkozásban is. Ha ugyanis a gazda valamely fogékonyságot szabályozó génje pl. rezisztensre mutál, (ami a gazdanövény számára szelekciós előny) a gazda-parazita kapcsolat csak úgy maradhat fenn, ha a kórokozóban is történik olyan mutáció, amely a kérdéses rezisztencia-gén hatását „neutralizálni" képes. Természetesen a kórokozórasszok fennmaradását az ilyen típusú, a gazdában történt mutációval „szembenálló" mutációk biztosítják, mert a rezisztens növényen a kórokozók nem tudnának továbbszaporodni és idővel kipusztulnának. Egyben ez a mechanizmus biztosítja a „gene-for-gene" helyzet létrejöttét, hiszen a kórokozónak csak olyan mutánsai lesznek a továbbiakban életképesek, amelyek „adekvátok" a gazdában lezajlott mutációs változásra.

E genetikai kísérleti eredményeknek és meggondolásoknak kérdésfelvetésünk szempontjából az a jelentősége, hogy bizonyítják a közvetlenül és specifikusan egymásra ható genetikai rendszerek létezését a gazdában és a parazitában. Világos, hogy az ilyen közös pontra ható genetikai rendszerek létezése nagyban valószínűsíti a 3. ábrán közölt séma lehetőségét, amennyiben a kórokozó genetikai rendszere természetszerűleg hathat a gazda megfelelő operonjainak a működésére és fordítva.

3. Kísérleti bizonyítékokkal rendelkezünk arra nézve, hogy a kórokozó valóban specifikusan befolyásolja a gazda protein-anyagcseréjét és fordítva. Rozsdával fertőzött bablevelekben azt találták, hogy a gazda almasavdehidrogenáz izoenzimjei közül egy mitokondriális eredetű fertőzés hatására eltűnik, míg egy citoplazmatikus izoenzim mennyisége megnövekedik.

Ugyanakkor a gazdanövényben való fejlődés során a kórokozó két almasavdehidrogenáz izoenzimje (amelyek nem azonosak egyik gazda-izoenzimmel sem) feltűnik. Az eredményeket úgy magyarázzák, hogy a gazda-parazita kapcsolat létrejötte során a gazda és a parazita (egymástól egyébként különböző) izoenzimjeinek szintézisében változás áll be, amennyiben egyes izoenzimek szintézise indukálódik, másoké pedig represszálódik (STAPLES és STAHMANN 1963). Hasonló jellegű vizsgálatok és eredmények más gazda-parazita komplexekkel kapcsolatban is ismeretesek. A modern fehérjefrakcionálási módszerekkel elvégzett vizsgálatok minden esetre arra utalnak, hogy a parazita behatolásának a helyén, akörül, de sokszor attól igen nagy távolságra is a fehérje, ill. az enzim-izoenzim-kép („pattern") átrendeződik (STAHMANN 1964). Maga az a tény, hogy fertőzés hatására az izoenzimek egymáshoz való arányában eltolódás következik be, erős bizonyíték amellett, hogy specifikus proteinek szintézisének kontrollja szenved változást a fertőzött szövetekben.

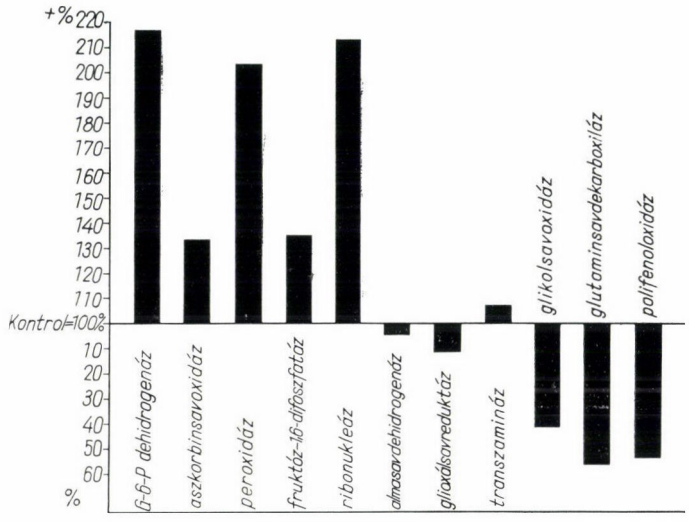
Mai ismereteink szerint ugyanis az izoenzimek száma génikusan determinált, az „izoenzim pattern" alakulása, azaz az egyes izoenzimek mennyiségének egymáshoz való viszonya viszont epigenetikus kontroll alatt áll, mint ezt állati eredetű tejsavdehidrogenázokra nézve igazolni lehetett (MARKERT 1963).

4. A fehérjekép átrendeződését és az új fehérjék megjelenését a már említett molekuláris-biológiai fogalmak és elképzelések alapján magyarázzák. Ennek az elgondolásnak más oldalról való további alátámasztását nyújtja a gazda-parazita komplex elmúlt év során megindult elektronmikroszkópos vizsgálata. E vizsgálatok szerint a parazita gomba behatolás helyén a növényi sejtben a citoplazmában nagymértékben megnő a riboszómák mennyisége (BERLIN és BOWEN 1964). Ezt a tényt a riboszómák ultracentrifugás analízise is bizonyítja. Minthogy a riboszómák számának a gyarapodása a proteinszintézis élénkülésére utal, indokoltnak látszik a megnövekedett enzimaktivitásokat stimulált enzimszintézissel magyarázni.

Összefoglalva tehát az eddig elmondottakat, elég sok indirekt bizonyíték szól amellett, hogy a molekuláris biológia ismert tényeit és gondolatvilágát a gazda-parazita kapcsolat és a rezisztencia biokémiai mechanizmusának analízisére alkalmazni lehet és szükséges. A víruskutatás vonalán ez a szemlélet már évekkel ezelőtt nagyon eredményesnek bizonyult, sőt a molekuláris biológia fejlődéséhez a vírus-gazdasejt (fág-baktérium) rendszer és a TMV-mutánsok analízise nagyban hozzá is járult. Az elmondottak értelmében kevés kétség lehet afelől, hogy bár a gombás és baktériumos betegségek esetében sokkal komplexebb és nehezebben hozzáférhető rendszerekről van szó, a gomba-gazdanövény vagy baktérium-gazdanövény kapcsolatnak a molekuláris biológia szintjén való vizsgálata is rendkívül gyümölcsöző lehet.

A fentiek messzemenő fenntartása mellett hangsúlyozni kell azonban, hogy néhány jelenség nehezen magyarázható meg a fent vázolt molekuláris biológiai elképzelések alapján. Ennek igazolására szeretnék részletesebben foglalkozni két enzimmel, amelyek a rezisztencia szempontjából a korábban mondottak értelmében fontosak, de amelyek viselkedése nehezen egyeztethető össze a parazita genetikai rendszere által indukált enzimszintézis gondolatával. Megfigyeléseink azokra a kísérletekre nyúlnak vissza, amelyek során tisztázni kívántuk, hogy magának a parazitának a jelenléte szükséges-e a parazitogén enzimaktivitás-változások létrejöttéhez; nem lehet-e azokat előidézni a parazita valamely anyagcseretermékével. A vizsgálatokra a dohányvész kórokozójának *(Pseudomonas tabaci)* kémiailag is jól definiált toxinját választottuk, amelyről ismert, hogy a methionin szerkezeti antagonistája. A dohányvésztoxin levelekbe injekciózása a rendes fertőzéshez hasonló tüneteket indukált. Azt találtuk, hogy a toxin aminósav-antagonista tulajdonságának megfelelően csökkenti a fehérjeszintet a levelekben a szabad-aminósav szint és az ammoniakoncentráció emelése mellett (FARKAS és LOVREKOVICH 1963).

Ugyanakkor viszont a kérdéses enzimek (G-6-P dehidrogenáz, peroxidáz) aktivitása mintegy kétszeresére emelkedett. Ezeket az eredményeket nehéz volt beleilleszteni az indukált proteinszintézis vagy a depresszió sémájába, bár kétségkívül az „összprotein" bontódása még nem zárja ki néhány specifikus protein egyidejű szintézisét. 25 enzimen végzett alapos vizsgálatok azonban nem valószínűsítették ezt a lehetőséget (FARKAS és LOVREKOVICH 1964). Azt találtuk, hogy viszonylag kevés azoknak az enzimeknek a száma, amelyeknek aktivitása jelentősen csökken a dohányvész-toxin által indukált összprotein

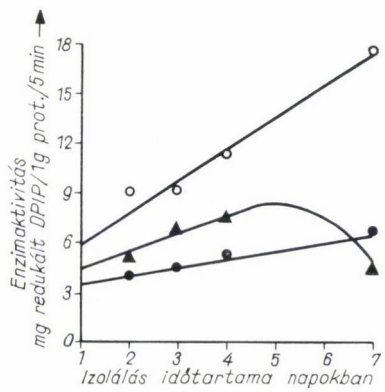


4. ábra. Enzimaktivitás-változások dohányszövetekben a *Pseudomonas tabaci* toxinjának hatására

bontódással párhuzamosan. A G-6-P dehidrogenázon és peroxidázon kívül számos enzim aktivitása, többek között proteinbontódással egyidejűleg jellegzetesen emelkedett (4. ábra).

Parallel vizsgálatokban azt néztük, hogy egyéb hatások, amelyek proteinbontódást indukálnak a növényi szövetekben, miképpen hatnak az enzimszintre. Ilyen proteinbontódást előidéző hatásként korrelatív tényezőket vettünk számításba, elsősorban a gyökérrendszernek azt a tulajdonságát, hogy a levelek proteinszintjét regulálja. A gyökérrendszer eltávolításával proteinbontódást idéztünk elő többféle növény (árpa, búza, dohány) leveleiben és vizsgáltuk a fehérjebontódás hatását az enzimaktivitások alakulására. Azt találtuk, hogy az ilyenkor észlelt enzimaktivitás-változások jellege általánosságban rendkívül hasonló a kórokozókkal fertőzött levelekben észlelt enzimaktivitás-változásokhoz (FARKAS, DÉZSI, HORVÁTH, KISBÁN és UDVARDY 1964), akár gombás (FARKAS és KIRÁLY 1958, 1962), akár baktériumos (FARKAS és LOVREKOVICH 1964) vagy vírusos betegségekről (SOLYMOSY és FARKAS 1962,

1963, 1964) legyen is szó. E megállapítás nem azt jelenti, hogy nincsenek speciális különbségek az egyes betegségeknek az enzimképre gyakorolt hatásában, hanem azt hangsúlyozza, hogy elsősorban néhány kulcsfontosságú enzim vonatkozásában (G-6-P dehidrogenáz, peroxidáz, glikolsav oxidáz) az általános fehérjebontódással járó anyagcsere-helyzet idéz elő ugyanolyan változásokat, mint a fertőzés (Udvardy, Horváth, Kisbán, Dézsi és Farkas 1964). Kérdés természetesen, hogy mennyire és milyen módon van a fehérjebontódás kapcsolatban a kérdéses enzimaktivitás-változásokkal, elsősorban enzimaktiválódásokkal. A jelenleg rendelkezésünkre álló eredmények arra utalnak, hogy éppen a fehérjebontódás — legyen az bármilyen eredetű — hozza magával néhány enzim

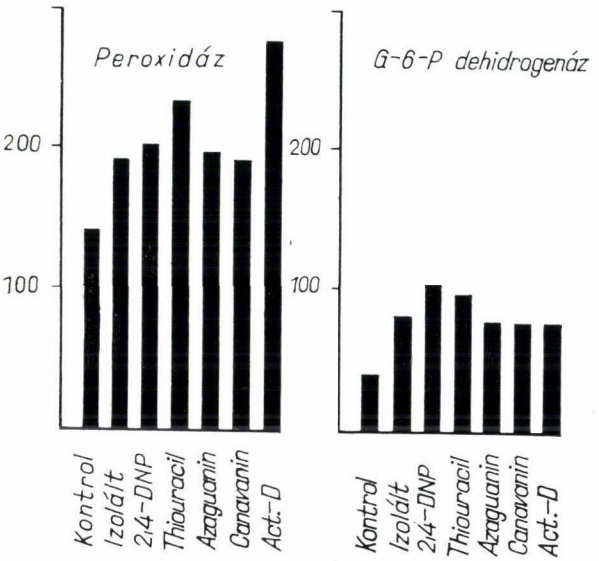


5. ábra. Izolálás és kinetinkezelés hatása a glukóz-6-P-dehidrogenáz aktivitására árpalevelekben

aktivitásának emelkedését a növényi szövetekben. Ezt igazolják kinetinnel végzett kísérleteink, amelyek szerint a kinetinnel a fehérjebontódás által okozott enzimaktivitás-változások nagymértékben antagonizálhatók (Udvardy, Horváth, Kisbán, Dézsi és Farkas 1964, Dézsi és Farkas 1964). (5. ábra). Ismeretes, hogy a kinetin a fehérjeszintézist serkenti és az izolált növényi szervekben meginduló fehérjebontódást megakadályozza (Osborne 1962).

További alátámasztást nyújtanak a fehérjebontódás és enzimaktiválódás közötti okozati összefüggés vonatkozásában az inhibitoros kísérletek. E kísérletekben (Farkas és Bagi, közöletlen adatok) azt vizsgáltuk, hogy a nukleinsavszintézis és a fehérjeszintézis inhibitorai képesek-e megakadályozni a fehérjebontódással párhuzamosan észlelt enzimaktivitás-növekedéseket. Az eddigi eredményeket a 6. ábra foglalja össze. Látható, hogy a vizsgált inhibitorok az enzimaktivitás-növekedést nem csökkentik, hanem inkább azt még erősítik. Ez megfelel annak a körülménynek, hogy a kérdéses inhibitorok jelenlétében a levelek proteinszintje csökken. Az inhibitoros kísérletek tehát amellett szólnak, hogy néhány enzimnek (G-6-P dehidrogenáz, peroxidáz) jellegzetes aktivitásemelkedése a beteg növényben éppen megnövekedett

proteolízis eredménye lehet. A serkentett proteolízis és megnövekedett G-6-P dehidrogenáz, ill. peroxidáz aktivitás közötti kapcsolat specificitására utal, hogy nem *minden* enzim viselkedik ilyen módon. A gyökérrendszer eltávolításának hatására meginduló proteolízis vagy a kérdéses inhibitorokkal való kezelés pl. a glikolsavoxidáz aktivitását (az egyébként várható módon) csökkenti (DÉZSI és FARKAS, közöletlen adatok) és a csökkenést a kinetin kiegyensúlyozza. Tehát vannak enzimek (pl. a glikolsavoxidáz), amelyek

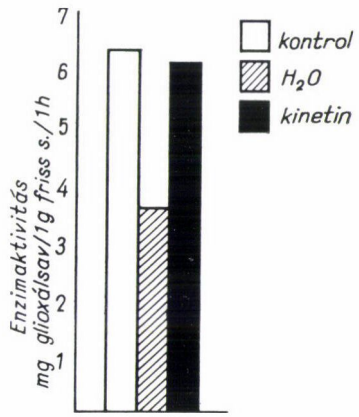


6. ábra. Proteinszintézist gátló vegyületek hatása izolált árpalevelek glukóz-6-dehidrogenáz és peroxidáz aktivitására

aktivitása a várakozásnak megfelelően követi a fehérjeszintbe való beavatkozásokat (7. ábra). Mindezekből kitűnik, hogy a molekuláris biológiai koncepciónak megfelelő mechanizmusok mellett még további mechanizmusokkal is kell számolnunk, amelyek az enzim (fehérje) képet befolyásolják s amelyek mind a beteg, mind az egészséges növény anyagcsereútjainak szabályozásában fontos szerepet játszhatnak. Ilyennek kell tekintenünk az elmondott kísérleti eredmények alapján a fehérjebontódással kapcsolatban meginduló enzimaktiválódást, ami egy eddig ismeretlen jelenségnek tekinthető s amelynek mechanizmusát molekuláris szinten is tisztázni kell.

A beteg növényben lezajló enzimológiai változásokról rajzolt és erősen fejlődő képet nem zárhatjuk le anélkül, hogy a beteg növény proteinanyagcseréjének egy további, napjainkban felfedezett jellegzetes vonásáról meg ne emlékezzünk. Egyre több bizonyíték utal arra, hogy az enzimológiai változások mellett olyan proteinanyagcsere-változások is történnek a fertőzött növényben, amelyek közvetlenebbül a kórokozó ellen irányulnak. Az antigén-antitest

reakció mintájára, mely oly nagy szerepet tölt be az emberi és állati szervezet immunitásában, sok figyelmet fordítottak hasonló reakció létezésének felderítésére a növényvilágban is. E vizsgálatok lényegében eredménytelenek maradtak, ami érthető is a növényi szervezet sajátos szerveződése miatt. Ugyanakkor azonban kétségtelen, hogy növényi vírusfertőzések együtt járnak olyan új növényi proteinek képződésével, vagy már meglevők felhalmozódásával, amelyek vírusgátló tulajdonságúak (ATANASOFF 1963, 1964, LOEBENSTEIN és ROSS 1963, SELA, HARPAZ és BIRK 1964).



7. ábra. Izolálás és kinetinkezelés hatása az árpalevelek glikolsavoxidáz aktivitására

A vírusgátló proteinek iránt ma igen nagy az érdeklődés, mert kiderült, hogy legalábbis néhány ilyen jellegű növényi protein (RAGETLI és WEINTRAUB 1962 *a*, *b*; LOEBENSTEIN és ROSS 1963) sok kémiai hasonlóságot árul el az állati vírusfertőzés hatására képződő antivirális hatású proteinekkel, az interferonokkal (FANTES és O'NEILL 1964). Az interferonok képződése lényegében a gazdaszervezet védekezési reakciójának egy formája (WAGNER 1963). Az interferonok képződésének mechanizmusával kapcsolatban nem sokat tudunk. Az a tény, hogy az interferon képződése állati szövetekben aktinomicin D-érzékeny (WAGNER 1964), arra utal, hogy az interferon-szintézis megindulása valami módon genetikai szinten, a gazda-DNS szintjén indukálódik és nem közvetlenül a vírus nukleinsavtól függ. Valószínűnek tartják, hogy az interferon szintézise sok tekintetben az indukálható enzimek szintéziséhez hasonlítható (WAGNER 1964).

A kórokozók behatolásával kapcsolatosan meginduló védekezési mechanizmusok minden jel szerint sokrétűek, és semmi esetre sem korlátozódnak a vírusok által indukált interferonok szintézisére. Egyre több adat szól amellett, hogy egy-egy kórokozó behatolása a gazda szervezetébe rezisztenciát indukálhat ugyanazon vagy más kórokozóval szemben. Így lokalizált vagy szisztе-

matikus, szerzett rezisztencia keletkezhet, amelynek szép példáit említhetjük egyebek között a vírusbetegségek köréből (YARWOOD 1960, ROSS 1961a, 1961b). Az így indukált rezisztencia kémiai természete egyelőre nem ismert, csak annyit tudunk, hogy az „enzim-pattern" átrendeződésével jár együtt (SOLYMOSY és FARKAS 1963). Újabban kísérleti eredmények lehetőséget adnak a kérdés további tisztázásához. Vírusfertőzések vonalán LOEBENSTEIN és ROSS vizsgálatai (1963), bakteriális vonalon pedig hazai vizsgálatok (LOVREKOVICH és FARKAS 1964) utalnak arra, hogy a szerzett rezisztencia kialakításához nem szükséges az élő kórokozó behatolása a gazdanövénybe. Vírusok elleni rezisztenciát lehet előidézni azáltal, ha a gazdaszöveteket tisztított vírusproteinnal kezeljük (LOEBENSTEIN és ROSS 1963). Baktériumos fertőzés elleni rezisztencia indukálható, ha a gazdaszövetekbe, a fertőzés előtt, hővel elölt baktériumokat juttatunk (LOVREKOVICH és FARKAS 1964). Pillanatnyilag még nem tudjuk, hogy mi az indukált rezisztencia lényege. Úgy látszik, hogy állati szervezetekben interferon keletkezését idegen nukleinsavnak a sejtekbe juttatásával is elő lehet idézni (ROTEM, COX és ISAACS 1963). Nincs kizárva, hogy a további vizsgálatok igazolni fogják azt az elgondolást, hogy általában az idegen nukleinsav behatolása a magasabbrendű szervezetek sejtjeibe olyan válaszreakciót (reakciókat) vált ki, amely végeredményben antimikrobiális jellegű.

Összefoglalva az egész előadásban mondottakat megállapíthatjuk, hogy a kórokozó által megtámadott növényre éppen úgy jellemző az aktív, védekező jellegű válaszreakciók kialakulása, mint az állati vagy emberi szervezetre. A válaszreakciók lényege, mint jeleztük lehet egy antimikrobiális (antivirális) jellegű protein képződése, de lehet enzimatikus jellegű proteinek szintézise, represszálódása vagy egyéb mechanizmusok révén való aktív formában való felszabadítása is, ami az anyagcsereutak szabályozásában játszhat fontos szerepet és alapvetően többféle jellegű is egyidejűleg. Ilyen fontos tényezőnek ismerjük ma az anyagcsere „aromatizálódását" a fertőzött növényekben, ami a fenolvegyületek és egyéb antimikrobiális aromatikus vegyületek szintéziséhez vezet. Ugyanakkor nem feledkezhetünk el az oxidáló enzimek „aktiválásáról" sem, aminek a jelentősége a gazda-parazita kapcsolat szempontjából, az elmondottak értelmében, ugyancsak nyilvánvaló. Természetesen nem szabad figyelmen kívül hagynunk a finoman összehangolt gazda-parazita kapcsolatok szempontjából egyéb anyagcsereélettani tényezőket sem, mint aminő pl. a vitaminok anyagcseréje. Kétségtelen azonban, hogy a gazda és parazita anyagcsererendszereinek az együttműködését (fogékonyság), vagy diszharmóniáját (ellenállóság) jelenlegi ismereteink alapján a nukleinsav- és fehérje (enzim)-anyagcsere kutatása révén közelíthetjük meg legjobban.

IRODALOM

ATANASOFF, D.: Interferon and plant viruses. Phytopath. Z. **47,** 207—214 (1963).

ATANASOFF, D.: Universalita of interferon formation. Phytopath. Z. **50,** 336—358 (1964).

BERLIN, J. D.—BOWEN, C. C.: The host-parasite interface of Albugo candida on Raphanus sativus. Amer. J. Bot. **51,** 445—452 (1964).

CRUICKSHANK, I. A. M.: Phytoalexins. Ann. Rev. Phytopath. **1,** 351—374 (1963).

DE BARY, A.: Über einige Sclerotinien und Sclerotien Krankheiten. Bot. Ztg. **44,** 377—387 (1886).

DÉZSI, L.—FARKAS, G. L.: Effect of kinetin on enzymes of glycolic acid metabolism in cereal leaves. Acta Biol. Acad. Sci. Hung. **14,** 325—332 (1964).

FANTES, K. H.—O'NEILL, C. F.: Some similarities between a viral inhibitor of plant origin and chick interferon. Nature **203,** 1048—1050 (1964).

FARKAS, G. L.: Probleme der parasitogen stimulierten Biosynthese aromatischer Verbindungen. Ber. Deut. Bot. Ges. **74,** 382—388 (1962).

FARKAS, G. L.—KIRÁLY, Z.: Studies on the respiration of wheat infected with stem rust and powdery mildew. Physiol. Plant. **8,** 877—887 (1955).

FARKAS, G. L.—KIRÁLY, Z.: Enzimologija bol'nogo rasztenija v szvjazi sz ujtojcsivosztju ego mikroorganizmam. Izv. Akad. Nauk SzSzSzR, Szer. Biol. No. **5,** 47—58 (1956).

FARKAS, G. L.—KIRÁLY, Z.: Enzymological aspects of plant diseases. I. Oxidative enzymes. Phytopath. Z. **31,** 251—272 (1958).

FARKAS, G. L.—KIRÁLY, Z.: Role of phenolic compounds in the physiology of plant diseases and disease resistance. Phytopath. Z. **44,** 105—150 (1962).

FARKAS, G. L.—LOVREKOVICH, L.: Counteraction by kinetin of the toxic effect of Pseudomonas tabaci. Phytopath. Z. **47,** 391—398 (1963).

FARKAS, G. L.—LOVREKOVICH, L.: Enzyme levels in tobacco leaf tissues affected by the wildfire toxin. Phytopathology (Megjelenés alatt).

FARKAS, G. L.—SOLYMOSY, F.: Activation of hydrogen and electron transport systems in a virus-infected local lesion host. Biochem. J. **84,** 113 P (1962).

FARKAS, G. L.—KIRÁLY, Z.—SOLYMOSY, F.: Role of oxidative metabolism in the localization of plant viruses. Virology **12,** 408—421 (1960).

FARKAS, G. L.—LOVREKOVICH, L.—KLEMENT, Z.: Increased activity of glucose-6-P-dehydrogenase in tobacco leaves affected by Pseudomonas tabaci. Naturwissenschaften **50,** 22—23 (1963).

FARKAS, G. L.—DÉZSI, L.—HORVÁTH, M.—KISBÁN, K.—UDVARDY, J.: Common pattern of enzymatic changes in detached leaves and tissues attacked by parasites. Phytopath. Z. **49,** 343—354 (1964).

HEITEFUSS, R.: Sauerstoffaufnahme, Phosphat- und Nucleinsäurestoffwechsel von Weizenpflanzen in Beziehung zur umweltgesteuerten Resistenz gegen Puccinia graminis tritici. Sitzungsber. DAL zu Berlin (Megjelenés alatt).

HEITEFUSS, R.—FUCHS, W. H.: Phosphatstoffwechsel und Sauerstoffaufnahme in Weizenkeimpflanzen nach Infektion mit Puccinia graminis tritici. Phytopath. Z. **46,** 174—198.

ISAACS, A.: Mechanism of cell infection. II. Intracellular virus replication. In „Mechanisms of Virus Infection" (Ed. by W. Smith). Acad. Press., London and New York 1963.

KEITT, G. W.: History of plant pathology. In „Plant Pathology" (Ed. by J. G. Horsfall and A. E. Dimond). Acad. Press., New York and London. 1959.

KIRÁLY, Z.—FARKAS, G. L.: On the role of ascorbic oxidase in the parasitically increased respiration of wheat. Arch. Biochem. Biophys. **66,** 474—485 (1957).

KULAEVA, O. L.—VOROB'EVA, K. P.: K voproszu o mehanizme dejsztvija kinetina na szintez belka. Fiziol. Raszt. **9,** 106—108 (1962).

LOEBENSTEIN, G.—ROSS, A. F.: An extracable agent, induced in uninfected tissues by localized virus infections that interferes with infection by tobacco mosaic virus. Virology **20,** 507—517 (1963).

LOVREKOVICH, L.—FARKAS, G. L.: Kinetin as an antagonist of the toxic effect of Pseudomonas tabaci. Nature **198,** 710 (1963).

LOVREKOVICH, L.—FARKAS, G. L.: Induced protection against the wildfire disease in tobacco tissues treated with heat-killed cells of Pseudomonas tabaci. Nature (Megjelenés alatt).

LUNDERSTÄDT, J.: Die Aktivität einiger Enzyme des Kohlenhydratstoffwechsels in Weizenkeimpflanzen nach Infektion mit Puccinia graminis tritici. Phytopath. Z. **50,** 197—220 (1964).

MARKERT, C. L.: Epigenetic control of specific protein synthesis in differentiating cells. In „Cytodifferentiation and Macromolecular Synthesis" (Ed. by M. Locke) Acad. Press., New York and London. (1963).

NEISH, A. C.: Biosynthetic pathways of aromatic compounds. Ann. Rev. Plant Physiol. **11** 55—80 (1960).

OSBORNE, D. J.: Effect of kinetin on protein and nucleic acid metabolism in Xanthium leaves during senescence. Plant Physiol. **37,** 595—602 (1962).

PERSON, C.: Gene-for-gene relationships in host: parasite systems. Can. J. Botan. **37,** 1101—1130 (1959).

RAGETLI, H. W. J.—WEINTRAUB, M.: Purification and characteristics of a virus inhibitor from Dianthus caryophyllus L. I. Purification and Activity. Virology **18,** 232—240 (1962).

RAGETLI, H. W. J.—WEINTRAUB, M.: Purification and characteristics of a virus inhibitor from Dianthus caryophyllus L. II. Characterization and mode of action. Virology **18,** 241—248 (1962).

ROSS, A. F.: Localized acquired resistance to plant virus infection in hypersensitive hosts. Virology **14,** 329—339 (1961).

ROSS, A. F.: Systemic acquired resistance induced by localized virus infections in plants. Virology **14,** 340—358 (1961).

ROTEM, Z.—COX, R. A.—ISAACS, A.: Inhibition of virus multiplication by foreign nucleic acid. Nature **197,** 564—566 (1963).

RUBIN, B. A.: Fiziologija i biohimija immuniteta rasztenij. Izd. Akad. Nauk SzSzSzR (1960).

SELA, I.—HARPAZ, I.—BIRK, Y.: Separation of a highly active antiviral factor from virus-infected plants. Virology **22,** 446—451 (1964).

SHAW, M.—SAMBORSKI, D. J.: The physiology of host-parasite relations. III. The pattern of respiration in rusted and mildewed cereal leaves. Can. J. Botan. **35,** 389—407. (1957).

SOLYMOSY, F.—FARKAS, G. L.: Simultaneous activation of pentose phosphate shunt enzymes in a virus-infected local lesion host plant. Nature **195,** 835 (1962).

SOLYMOSY, F.—FARKAS, G. L.: Metabolic characteristics at the enzymatic level of tobacco tissues exhibiting localized acquired resistance to viral infection. Virology **21,** 210—221 (1963).

SOLYMOSY, F.—FARKAS, G. L.: Effect of virus infection on glycolic acid oxidase in tobacco. Phytopath. Z. **51,** 153—161 (1964).

SOLYMOSY, F.—FARKAS, G. L.—KIRÁLY, Z.: Biochemical mechanism of lesion formation in virus-infected plant tissues. Nature **184,** 706—707 (1959).

STAHMANN, M. A.: The biochemistry of proteins of the host and parasite in some plant diseases. Sitzungsber. DAL zu Berlin (Megjelenés alatt).

STAPLES, R. C.—STAHMANN, M. A.: Malate dehydrogenases in the rusted bean leaf. Science, **140,** 1320—1321 (1963).

SZENT-GYÖRGYI, A.—VIETORISZ, K.: Bemerkungen über die Funktion und Bedeutung der Polyphenoloxidase der Kartoffeln. Biochem. Z. **233,** 236—239 (1931).

UDVARDY, J.—HORVÁTH, M.—KISBÁN, K.—DÉZSI, L.—FARKAS, G. L.: Alteration of enzyme activities in detached leaves and their counteraction by kinetin. Experientia, **20,** 214 (1964).

URITANI, I.: Molecular pathology in the plant field with special regard to defence action of the host. Sitzungsber. DAL zu Berlin (Megjelenés alatt).

WAGNER, R. R.: The interferons: cellular inhibitors of viral infection. Ann. Rev. Microbiol. **17,** 285—295 (1963).

WAGNER, R. R.: Inhibition of interferon biosynthesis by actinomycin D. Nature **204,** 49—51 (1964).

YARWOOD, C. E.: Localized acquired resistance to tobacco mosaic virus. Phytopathology **50,** 741—744 (1960).

A THERMOREGULÁCIÓS HŐTERMELÉSRŐL*

DONHOFFER SZILÁRD

Akadémiai székfoglaló előadás

A thermoregulációs hőtermelés helyének és mechanizmusának régi vitájában sok évtized után sem találtak mindenre kielégítő választ. A kutatók egy része ma is hirdeti meggyőződését, hogy a thermoregulációs hőtermelés a harántcsíkolt izom elektromos tevékenységéhez kötött, vagyis egyet jelent látható vagy láthatatlan didergéssel, tehát mechanikus aktivitással.

Mások ezzel szemben azt tartják, hogy meggyőzően demonstrálták a didergéstől független (non-shivering) thermogenesist, vagyis az elektromos izomaktivitás nélküli hőtermelés-fokozódást. A didergés nélküli thermogenesis létezésére a hideghez szoktatott curarizált patkány szolgáltatta a legközvetlenebb bizonyítékot. Ellentétben a meleg környezethez szokott állattal, hidegben azonnal emelkedett az O_2-fogyasztás, noha a curare teljesen megszüntette a vázizomzat elektromos aktivitását (COTTLE és CARLSON, 1956; DEPOCAS, 1960).

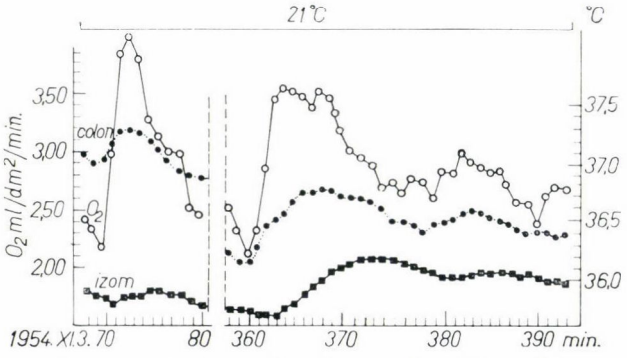
Az általános felfogás szerint a didergés nélküli thermogenesis helye ugyancsak a vázizomzat és csak kevesen tulajdonítottak fontos szerepet a belső szerveknek (JITÁRIU et al., 1941; FEDOROV és SHUR, 1942; SELLERS et al., 1954; DONHOFFER et al., 1957 b) vagy legújabban a barna zsírszövetnek (SMITH, 1962; SMITH és HOCK, 1963; DAWKINS és HULL, 1964; SMITH, 1964; SMITH és ROBERTS, 1964; DONHOFFER et al., 1964; BRÜCK és WÜNNENWEBER, 1965).

Mivel a didergés nélküli thermoregulációs hőtermelés léte és még inkább helye még mindig vita tárgya és a hideghez szokott és hideghez nem adaptált állat közötti különbséget sem sikerült kielégítően magyarázni, érdemesnek látszott behatóan foglalkozni a kérdéssel.

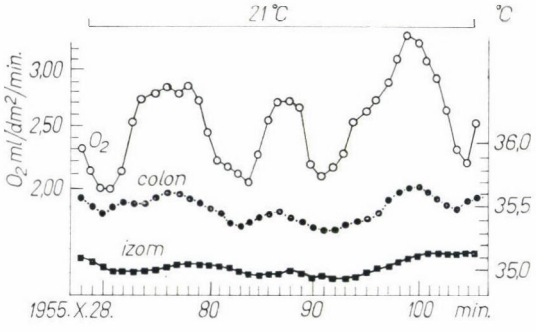
15 évvel ezelőtt éber patkányon regisztráltuk az O_2-fogyasztás változását különböző körülmények között. Felkeltette figyelmünket, hogy hűvös környezetbe helyezéskor gyakran megelőzte az O_2-fogyasztásnövekedés a motoros aktivitást, sőt az O_2-fogyasztás emelkedését jelző galvanométer kitérésből egyes kísérletekben sikerrel lehetett következtetni motoros nyugtalanság bekövetkeztére.

* Elhangzott a Magyar Tudományos Akadémián 1965. április 8-án.

A kísérleti berendezés a pécsi intézetben szokásos volt (DONHOFFER et al., 1958). Az időjelzés valamennyi ábrán a hőmérsékletek és az O_2-fogyasztás mérésével veszi kezdetét. Ezt megelőzve a thermoelemek elhelyezése után, 1—1,5 óráig semleges hőmérsékleten (29—30 C) tartózkodott az állat. Az urethant a thermoelemek elhelyezése előtt kb. 1 órával fecskendeztük intraperitoneálisan az állatba; Evipan használatakor az intravénás befecskendezés



1. ábra. Patkány, ♂, 235 g; 0,15 g urethan intraperitoneálisan (DONHOFFER et al., 1957 c)



2. ábra. Patkány, ♂, 230 g; 0,15 g urethan intraperitoneálisan (DONHOFFER et al., 1957 c)

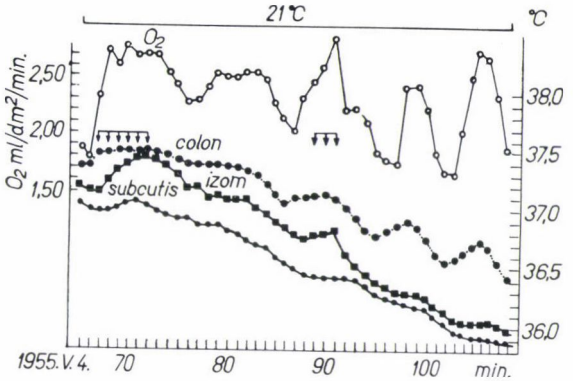
után azonnal behelyeztük a thermoelemeket. Urethan bódulatban tehát legalább 2 óra, Evipan alkalmazásakor legalább egy óra telt el a kísérlet kezdetéig (0 perc), ezt az időt tehát hozzá kell adni az ábrákon megadott időhöz, ha tekintetbe óhajtjuk venni a narkotikumbefecskendezés óta eltelt időt.

Az első kísérleti sorozatban 20° C-os környezetben az O_2-fogyasztás és CO_2-termelés mellett thermoelemekkel mértük a colon, a lumbális izomzat és a lumbális tájék bőr alatti hőmérsékét:

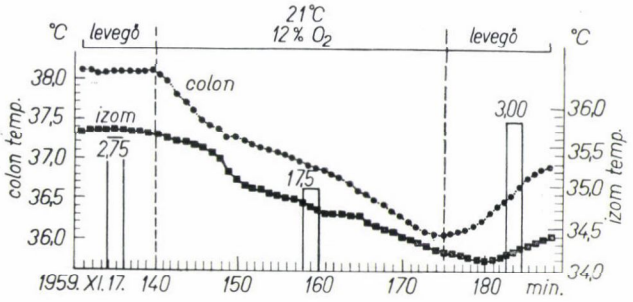
a) a hőtermelés spontán ingadozásakor (DONHOFFER et al., 1957 a)
b) hypoxiában és hyperkapniában.

Az 1—3. ábra egyértelműen mutatja, hogy a 9—10 cm-rel az anus felett mért colonhőmérséklet híven követte a thermoregulációs hőtermelés oscillációit,

ezzel szemben az izomban sokkal kisebb a kilengés és időben elmaradt az O_2-fogyasztás és a colontemperatúra változásától. A 3. ábrából egyszersmind kitűnik, hogy manifest motoros aktivitáskor kifejezetten emelkedett az izomhőmérsék.



3. ábra. Patkány, ♂, 170 g; 0,13 g urethan intraperitoneálisan. A nyilak jelzik, hogy az állat mozog. Motoros aktivitáskor az izomhőmérséklet emelkedik, máskor csak késve követi a hőtermelést és a colonhőmérsék változását (DONHOFFER et al., 1957 c)



4. ábra. Patkány, ♂, 270 g; 0,19 g urethan intraperitoneálisan. Az oszlopok a hypoxia előtti 10 perc és a hypoxia után, illetve a hypoxia alatt ténylegesen mért első 10 perc O_2-fogyasztásának középértékét jelzik ml/dm /min. Az O_2 szegény gázkeverékre, illetve újra levegőre visszatérve, az első 3—4 percben az O_2-fogyasztást nem lehet mérni, mert ennyi idő szükséges a készülék új egyensúlyának kialakulásához (SZEGVÁRI et al., 1961)

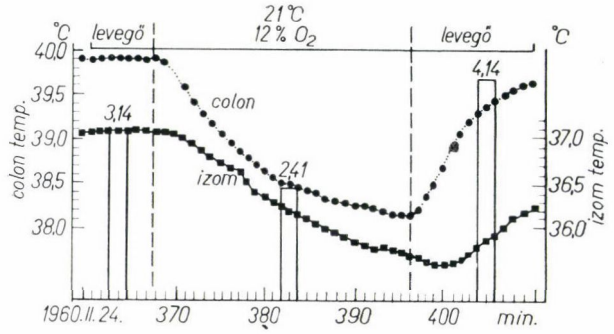
Az izomhőmérsék elmaradása a hőtermelés és a colontemperatúra változásától nem nagyon illett abba a felfogásba, mely az izomba lokalizálja a thermoregulációs hőtermelést.

Ugyanerre a következtetésre kellett jutni a colon-és az izomhőmérsék viselkedéséből hypoxiában. 12% O_2-ben hirtelen csökkent az O_2-fogyasztás és a colonhőmérsék; az izomhőmérsék itt is késedelmesen követte a változást (4. és 5. ábra).

Még szembetűnőbb a változás, amikor ismét levegő helyettesítette a 12% O_2-t; a hőtermelés azonnal fokozódott és ezzel párhuzamosan meredeken

emelkedett a colonhőmérséklet, ugyanakkor az izomhőmérsék néhány percen át még tovább csökkent. Az 1. táblázat 20 állaton végzett 35 kísérlet középértékeit demonstrálja. Nincs semmi kétség; mind a változás foka, mind a változás üteme sokkal nagyobb a colonhőmérsékletben, mint az izomban.

Lényegében ugyanezt látni hyperkapniában. A 6. ábra 11 kísérlet eredményét demonstrálja. 4—6% CO_2-lélegeztetésekor hirtelenül zuhant a hőtermelés, vele párhuzamosan esett a colonhőmérsék és ugyanakkor alig változott az izomhőmérsék. Levegőlélegeztetésre való visszatéréskor még szembe-



5. ábra. Patkány, ♂, 335 g; 0,23 g urethan intraperitoneálisan. Az oszlopok a hypoxia előtti 10 perc és a hypoxia alatt, illetve a hypoxia után ténylegesen mért első 10 perc oxygen fogyasztásának középértékét jelzik ml/dm²/min. Az oxygenszegény gázkeverékre, illetve újra levegőre visszatérve, az első 3—4 percben az O_2-fogyasztást nem lehet mérni, mert ennyi idő szükséges a készülék új egyensúlyának kialakulásához (SZEGVÁRI et al., 1961)

tűnőbb a változás: a hőtermelés azonnal meredeken emelkedett és meghaladta a hyperkapnia előtti szintet. Ezzel párhuzamosan emelkedett a colonhőmérséklet, az izomhőmérsék azonban még 5 percig csökkent.

A hyperkapnia utolsó 5 percében az izomhőmérsékletben észlelt csekély csökkenés statisztikailag nem signifikáns, ennek ellenére értékelni kell, mert hosszabb ideig tartó hyperkapniában a csökkenés folytatódott és magasabb CO_2-koncentráció lélegeztetésekor már az első 5 percben meredeken zuhant az izomhőmérsék (7. ábra).

Mindhárom típusú kísérlet közös vonása, hogy a környezeti hőmérsék, vagyis a hőkicserélődés külső tényezői, mindvégig változatlanok maradtak.

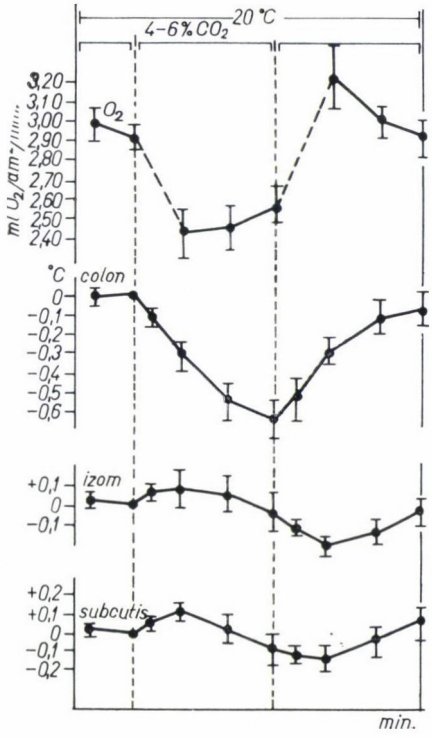
1. táblázat

Hőmérsékletváltozás (C)

	12% oxygen		Újra levegő	
	5 perc után	10 perc után	5 perc után	10 perc után
Colon	$-0{,}50 \pm 0{,}04$	$-0{,}91 \pm 0{,}07$	$+0{,}38 \pm 0{,}05$	$+0{,}74 \pm 0{,}07$
Izom	$-0{,}25 \pm 0{,}04$	$-0{,}60 \pm 0{,}06$	$+0{,}05 \pm 0{,}03$	$+0{,}22 \pm 0{,}05$
	$P < 0{,}001$	$P < 0{,}01$	$P < 0{,}001$	$P < 0{,}001$

Mindhárom típusú kísérletben a colonhőmérsék szoros párhuzamban változott a hőtermeléssel és az izom hőmérséklete minden esetben késedelmesen követte a változást.

Változatlan környezeti feltételek között a test különböző részeinek hőmérsékváltozása vagy a hőtermelés, vagy a véráramlás változásának, vagy a kettő kombinációjának a jele.



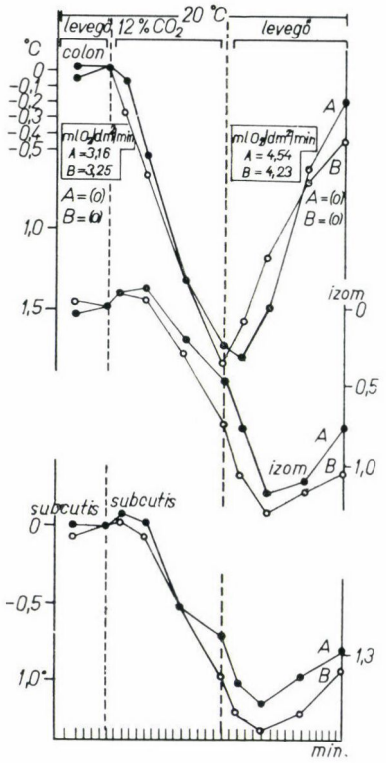
6. ábra. 11 kísérlet középértékei és a középértékek hibái (standard error) (Szegvári és Várnai 1962)

Változatlan hőtermelés mellett aránylag nem nehéz értelmezni az ilyen lokális változást. Az összhőtermelés változásakor el kell vetni a lokális hőmérsékváltozások minden olyan értelmezését, mely összeférhetetlen az összhőtermelés változásával vagy nem ad arra kielégítő magyarázatot.

A hőtermelésfokozódást kísérő izomhőmérséklet-csökkenést, önmagában ugyan lehetne magyarázni véráramlás-változással, de ezt a magyarázatot sehogy sem lehetne összeegyeztetni azzal, hogy az izomban fokozódott a hőtermelés; pedig valahol a szervezetben kétségtelenül igen jelentősen nőtt a hőtermelés.

Két alternatíva marad:

1. A hőtöbbletet mégis az az izom termeli, amelyben a hőmérséklet még csökken, és nem a szervezet más része, ahol egy időben az összhőtermeléssel emelkedik a hőmérsék. Ez annyit jelentene, mint feltételezni, hogy az izomból visszatérő még egyre hűvösebb vér melegíti a szervezet belsejét.



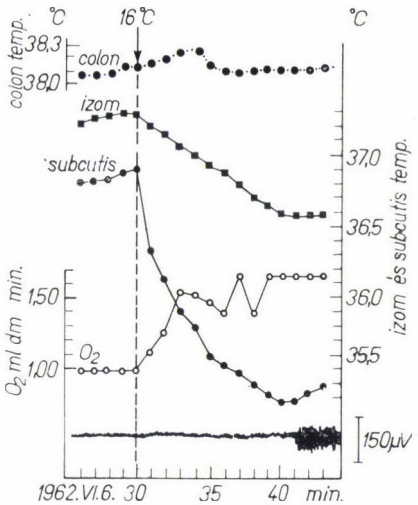
7. *ábra.* Két kísérlet ugyanazzal az állattal, a két megfigyelés között 160 perc telt el. Az O_2-fogyasztás adatai a hyperkapnia előtti percek és a hyperkapnia utáni 5. és 10. perc közötti középértéket adják meg (SZEGVÁRI és VÁRNAI, 1962)

2. A másik alternatíva, hogy a hőtermelés fokozódásakor a többlethő azon a helyen termelődik, ahol ezzel egy időben emelkedik a hőmérséklet, és nem ott, ahol ugyanakkor még csökken.

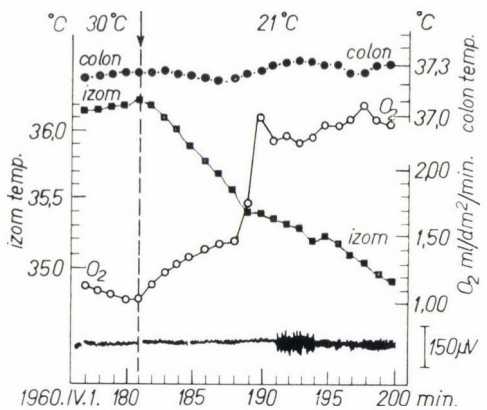
Nyilván csak a második alternatíva magyarázza ésszerűen a megfigyelt jelenséget.

Akármennyire meggyőzőnek látszott mindez, csupán indirekt bizonyítékokra támaszkodott a következtetés, mert kizárólag az összhőtermelésre és hőmérsékmérésekre épült. Ezért kellett egyidejűleg regisztrálni a lumbális és a femorális izomzat elektromos aktivitását is. Tizennyolc állaton végzett kísérletben 45 ízben helyeztük a patkányt hűvös környezetbe, tizennyolc esetben figyeltük meg hypoxia és 11 esetben 6% CO_2-hatását. Néhány példa kielégítően demonstrálja az eredményeket.

A 8. és 9. ábrából kitűnik, hogy patkányban hűvös környezetbe helyezéskor előbb növekedhetik az O_2-fogyasztás, mint az elektromos aktivitás. A hőtermelés már elérte maximumát, mielőtt megjelent volna az elektromos aktivitás és ennek megjelenése nem fokozta tovább a hőtermelést.



8. ábra. Patkány, ♂, 235 g; 0,14 g urethan intraperitoneálisan (SZEGVÁRI et al., 1963)



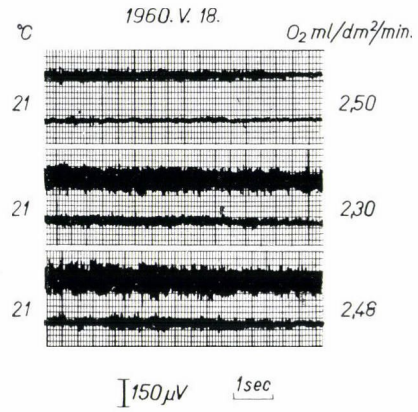
9. ábra. Patkány, ♂, 370 g; 0,19 g urethan intraperitoneálisan (SZEGVÁRI et al., 1963)

A 10. ábra olyan kísérletből származik, melyben a hűvös környezetben már kialakult a thermális egyensúly. Világosan kitűnik, hogy nincsen szoros párhuzam az összhőtermelés és az elektromos aktivitás között. Igen különböző intenzitású izomaktivitás mellett azonos az O_2-fogyasztás.

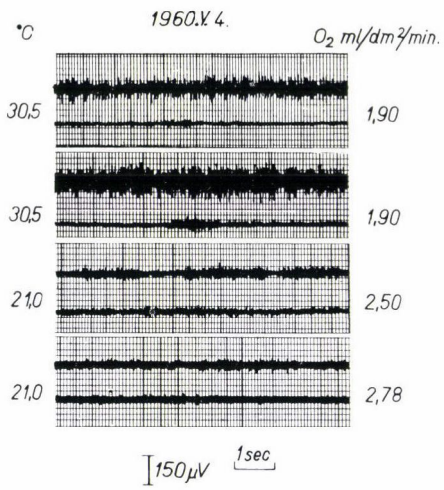
Egy másik kísérletben (11. ábra) közömbös hőmérsékleten intenzív volt az elektromos aktivitás és ennek megfelelően az O_2-fogyasztás is kifejezetten

magasabb az alapanyagcserénél. Később hűvös környezetben azonban sokkal kevésbé intenzív elektromos aktivitás társult jóval magasabb O_2-fogyasztáshoz.

Az összhőtermelés és az elektromos aktivitás messzemenő függetlenségét mutatták a hypoxiás és hyperkapniás kísérletek is.



10. ábra. Patkány, ♂, 320 g; 0,16 g urethan intraperitoneálisan. A felső sor a lumbális izomzat, az alsó a femorális izomzat elektromos aktivitását tükrözi (SZEGVÁRI et al., 1963)

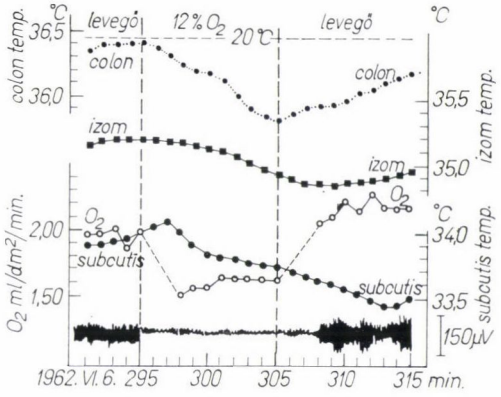


11. ábra. Patkány, ♂, 320 g; 0,16 g urethan intraperitoneálisan. A felső sor a lumbális, az alsó a femorális izomzat aktivitását tükrözi (SZEGVÁRI et al., 1963)

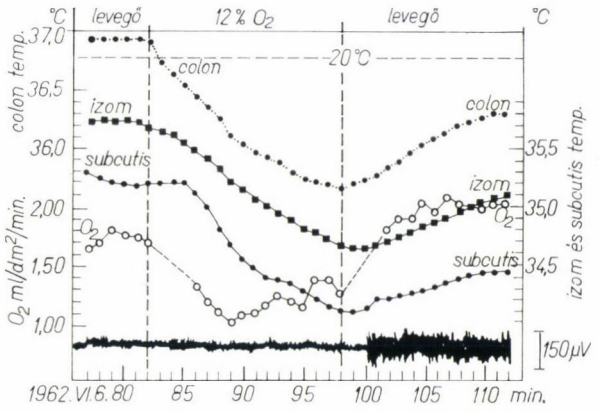
A 12. ábra által demonstrált kísérletben minden az általános felfogást látszik igazolni. Hypoxiában azonnal minimálisra csökkent az elektromos aktivitás és ugyanakkor számottevően csökkent a hőtermelés. Három perccel miután ismét levegő jutott az állathoz, erőteljes elektromos aktivitás jelentkezett, és ugyanakkor jóval több O_2-fogyott, mint a hypoxia előtt. Ez a coincidentia azonban csak látszat, mert ha tekintetbe vesszük a kísérleti beren-

dezés időállandóit, nyilvánvaló, hogy már az első percben fokozódott a hőtermelés, amikor levegő jutott ismét a kamrába.

Ugyanebből a kísérletből származik a 13. ábra. A hypoxiában meredeken esett a hőtermelés anélkül, hogy változott volna az elektromos aktivitás;



12. ábra. Ugyanabból a kísérletből származik, mint a 8. ábra



13. ábra. Ugyanabból a kísérletből származik, mint a 8. és 12. ábra

a hypoxia után ebben az esetben is meg kellett előznie az O_2-fogyasztás emelkedésének az intenzív elektromos aktivitást.

A következő kísérletben (14. ábra) aránylag magas hőtermelés mellett gyakorlatilag nem volt izomaktivitás a hűvös környezetben. CO_2-légzéskor a jóval alacsonyabb hőtermeléssel intenzívebb izomaktivitás párosult.

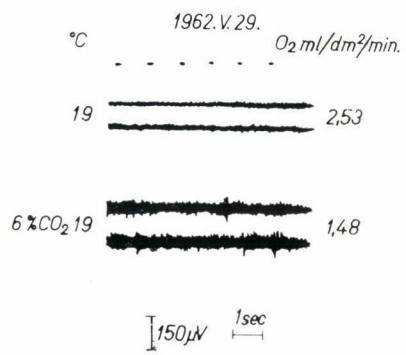
Mielőtt következtetéseket vonnánk, két módszertani kérdést kell tisztázni:

a) mennyiben reprezentálja patkányban a lumbális és a combizomzat elektromos aktivitása az egész vázizomzatét és

b) mennyiben vonatkozik az elektromos izomaktivitás és az egyidejűleg regisztrált O_2-fogyasztás valóban egyidejű folyamatokra.

Szigorúan véve a regisztrált akciós áram csak egy többé-kevésbé körülírt terület aktivitását tükrözi és nem enged következtetni más izmok, vagy akár ugyanazon izom távolabbi részének aktivitására. Egyébként régi ismeret, hogy különböző izmok váltakozva diereghetnek, és egyazon izom különböző rostcsoportjai is váltakozhatnak a didergésben.

Az adott kísérleti feltételek mellett azonban mindenkor a lumbális izomzat mutatta a legtartósabb és legintenzívebb elektromos aktivitást.



14. ábra. Patkány, ♂, 245 g; 0,15, urethan intraperitoneálisan (SZEGVÁRI et al., 1963)

A combizomzat elektromos aktivitása úgyszólván mindig rövidebb tartamú és kevésbé intenzív volt, és csak kivételesen volt egyenlő a lumbális izomzatéval, mint az egyik demonstrált kísérletben.

Egymástól 3 mm-nyire elhelyezett bipoláris elektródok a patkányizom aránylag nagy területének aktivitását regisztrálják, és soha nem láttunk számottevő aktivitást a combizomzatban anélkül, hogy egyidejűleg ne jelentkezett volna, vagy ne erősbödött volna az aktivitás a lumbális izomzatban, holott ennek az ellenkezőjét gyakran tapasztaltuk.

Ezért jogosnak látszott a következtetés, hogy az adott kísérleti feltételek mellett a lumbális izomzat elektromyogramja elég érzékeny indikátora a vázizomzat elektromos aktivitásának általában.

Az O_2-felvétel a tüdőben késedelemmel követi a szövetek O_2-fogyasztásának emelkedését. Ez a késedelem természetesen számottevő az akciós áram regisztrálásához szükséges időhöz viszonyítva, de elhanyagolható az adott kísérletek szempontjából. Nem hanyagolható el azonban az a késedelem, amellyel az egész állat O_2-fogyasztásának változását regisztrálja a kísérleti berendezés.

Az anyagcserekamrából távozó gáz összetételének minden változását ugyan 20 másodpercen belül jelzi a galvanométer és jóval egy percen belül regisztrálja a változás teljes nagyságát is, de a kamrában tartózkodó állat

O_2-fogyasztásának hirtelen változásakor mégis 3—4 perc kell, míg a galvanométerkitérés teljes egészében tükrözi a változást.

A felvetett kérdés szempontjából természetesen nincsen probléma, ha már az elektromos aktivitás előtt fokozódott az O_2-fogyasztás, vagy ha csökkenő O_2-fogyasztás mellett fokozódik, vagy akár csak változatlanul intenzív marad az elektromos aktivitás.

Más esetekben azonban tekintetbe kell venni az O_2-fogyasztás regisztrálásának késedelmét. Ennek megfelelően minden ábra, mely az elektromyogramok mellett számokkal jelezte az O_2-fogyasztást (10., 11., 14. ábra), olyan megfigyelésekből származott, melyekben négy perc óta nem változott az elektromos aktivitás és az O_2-fogyasztás.

E módszertani megfontolások elfogadásakor jogos a következtetés, hogy az elektromos izomaktivitás nélküli hőtermelésnövekedés, vagy az aktivitás előtti fokozódás bizonyítja a didergés nélküli thermogenesist hideghez nem adaptált állatban.

Ugyanerre a következtetésre kell jutni azokból a hypoxiás és hyperkapniás kísérletekből is, melyekben kisebb hőtermelés párosult intenzívebb elektromos aktivitással. Ilyenkor ugyanis az izomaktivitástól független mechanizmusokban kellett csökkennie a hőtermelésnek.

Az ellentét e kísérletek és azon adatok között, melyek szerint csak hidegadaptált patkányban létezik didergés nélküli thermoregulációs hőtermelés (Héroux et al., 1956; Cottle és Carlson, 1956; Depocas, 1960), inkább látszat, mint valóság és a különböző környezeti hőmérsék következménye.

Látható vagy láthatatlan didergés időszakosan helyettesítheti a didergés nélküli thermogenesis egy részét, és részt vehet a thermoregulációs hőtermelés periódusos oscillációiban is. Egy bizonyos környezeti hőmérsék alatt, vagy pontosabban, ha a hőveszteség meghalad egy bizonyos határt, állandósul a látható vagy láthatatlan didergés.

A hőveszteség, melynél a látható és láthatatlan didergés állandósul, változik az adaptációval. Ennek következtében a hideghez szoktatott patkányban elegendő lehet a didergés nélküli hőtermelés olyan környezetben, amelyben a hideghez nem szokott állat már állandóan didereg.

Az a tény, hogy a hőtermelés állandó szinten mozoghat annak ellenére, hogy igen jelentékenyen változik az elektromos aktivitás, demonstrálja, hogy az összhőtermelés szabályozását nem érintik szükségképpen a részfolyamatokban bekövetkező változások, vagyis a didergéses és nem didergéses hőtermelés helyettesítheti egymást.

A didergés nélküli hőtermelés létezése önmagában természetesen nem mond semmit annak helyéről, és ezért még nem cáfolja meg azt a felfogást, hogy a didergés nélküli thermogenesis helye a vázizomzat.

Mindent egybevetve, a bizonyítékok nyomatékosan szólnak amellett,

hogy az izomzat nem játszik lényeges szerepet a didergés nélküli hőtermelésben, de nem lehet tagadni, hogy a bizonyítás indirekt.

Kutyában az arteria femoralis profundában csak akkor fokozódott az áramlás, amikor bekövetkezett a didergés (REIN, 1931). Az ember alkarjában hűtéskor fokozatosan csökkent a véráramlás, a glucosefelvétel és az O_2-fogyasztás (ABRAMSON et al., 1958; BROWN és MOTTRAM, 1960).

Ez az utóbbi megfigyelés elég direkt bizonyíték WEZLER és NEUROTH (1949) DUBOIS, EDBAUGH és HARDY (1952) által is elfogadott következtetésére, hogy a peripheria hőtermelésének a hűléssel kapcsolatos csökkenése még akkor is feltételezi, hogy a szervezet belsejében fokozódott a hőtermelés, ha az összhőtermelés hidegben nem emelkedett az alapanyagcsere szintje fölé.

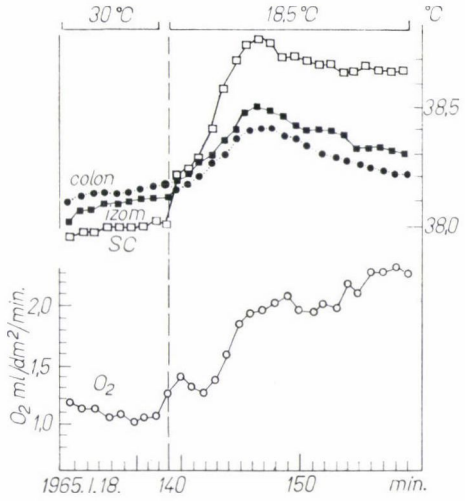
A colon-, az izomhőmérséklet és a thermoregulációs hőtermelés változása hűvös környezetben, hypoxiában és hyperkapniában, nyomatékosan szól amellett, hogy a didergés nélküli hőtermelés elsődleges forrása nem a vázizomzat.

Egyetlen kísérlet sehogy sem illeszkedett ebbe a képbe. DEPOCAS (1960) funkcionálisan eviscerálta a hideghez szokott patkányt, tehát eltávolított a máj kivételével minden hasi szervet, és lekötötte az arteria hepaticát. Az így csonkított patkány curare hatása alatt hidegben mégis fokozta hőtermelését. Ezt valóban igen nehéz volt másként magyarázni, mint azzal a feltevéssel, hogy a curareval bénított vázizomban fokozódott a hőtermelés, mégpedig természetesen didergés nélkül. Ez az ellentmondás azóta megoldódott. R. E. SMITH (1961, 1962, 1963, 1964) a barna zsírszövet anatómiai elhelyezkedéséből és a magas in vitro O_2-fogyasztásból kiindulva felvetette azt a gondolatot, hogy a barna zsírszövet szerepet játszhatik a thermoregulációs hőtermelésben. Ezt a feltevést sikerült azóta újszülött nyúlban (DAWKINS és HULL, 1964; HULL és SEGALL, 1964), újszülött tengerimalacban (BRÜCK és WÜNNENBERG, 1965), valamint kifejlett patkányban, tengerimalacban és ürgében (DONHOFFER et al., 1964; DONHOFFER és SZELÉNYI, 1965) igazolni.

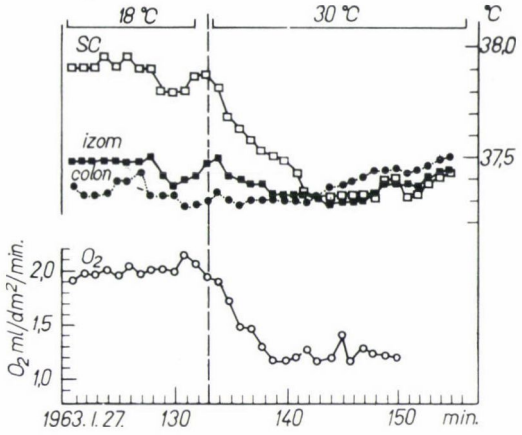
Az interscapuláris barna zsírszövet hőmérséklete még gyorsabban és hívebben követi a thermoregulációs hőtermelés változását, mint a colon, vagy bármelyik másik belső szerv hőmérséklete. A 15. ábra patkánykísérletet ábrázol, melyben az O_2-fogyasztás mellett mértük a colon, az interscapuláris zsírszövet és a közvetlenül alatta elhelyezkedő hátizom hőmérsékletét. Semleges hőmérsékleten (30 C) nincs nagy különbség a három hőmérséklet között, de a colonhőmérséklet a legmagasabb. Hidegbe helyezéskor a hőtermelés fokozódásával párhuzamosan mindhárom helyen emelkedett a hőmérsék, de az interscapuláris zsírszövetben emelkedett a legmagasabbra.

A 16. ábra kísérletében hűvös környezetben megint az interscapuláris zsírszövet hőmérséke volt a legmagasabb, sőt az alatta fekvő izom hőmérséke is magasabb volt a colonénál. Semleges hőmérsékre helyezve, párhuzamosan a hőtermelés csökkenésével, rohamosan esett az interscapuláris zsírszövetben

a hőmérsék, ugyanakkor alig változott a colon- és az izomhőmérsék. Néhány perc múlva helyreállt a semleges hőmérséken megszokott kép: a colontemperatúra meghaladta az interscapuláris zsírszövet és az alatta fekvő izom hőmérsékletét.



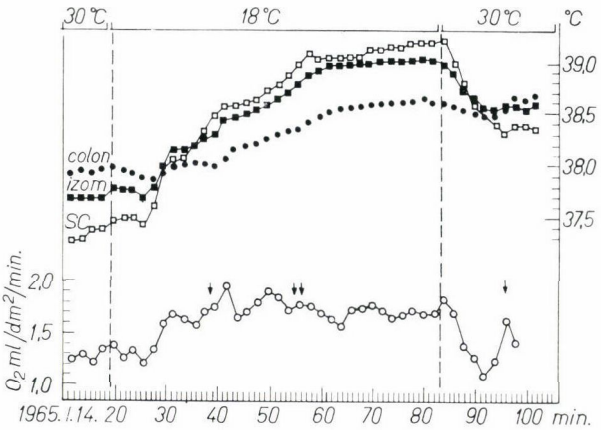
15. ábra. Patkány, ♂, 235 g; 24 mg Evipan-Na intravénásan (DONHOFFER és SZELÉNYI, 1965)



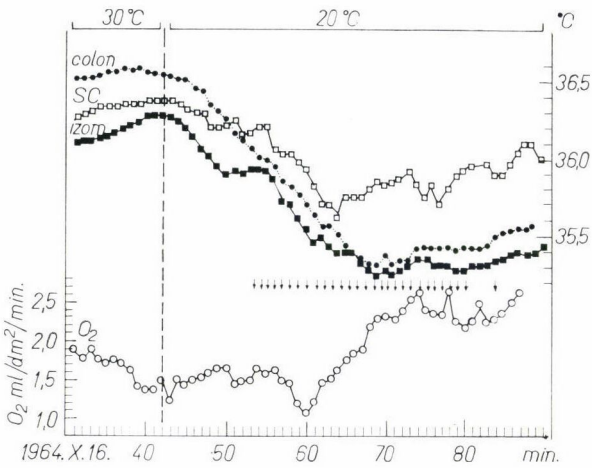
16. ábra. Patkány, ♂, 235; 23 mg Evipan-Na intravénásan (DONHOFFER és SZELÉNYI, 1965)

Semleges hőmérséken a colon hőmérséke volt a legmagasabb a 17. ábra kísérletében is, de még az interscapuláris zsírtest alatti hátizom hőmérséke is meghaladta a barna zsírszövetét. Hűvös környezetben 3 perc után a gyakorlatilag éber állatban fokozódott a hőtermelés és mind a három helyen emelkedett a hőmérsék. Néhány perc múlva az interscapuláris zsírszövet hőmérséke volt a legmagasabb és a colonhőmérsék a legalacsonyabb. Semleges hő-

mérsékre visszahelyezve a patkányt, alig teltel néhány perc és ismét a colon-hőmérsék volt a legmagasabb és az interscapuláris zsírszövet hőmérséke a legalacsonyabb.



17. ábra. Patkány, ♂, 280 g; 34 mg Evipan-Na intravénásan (DONHOFFER és SZELÉNYI, 1965)



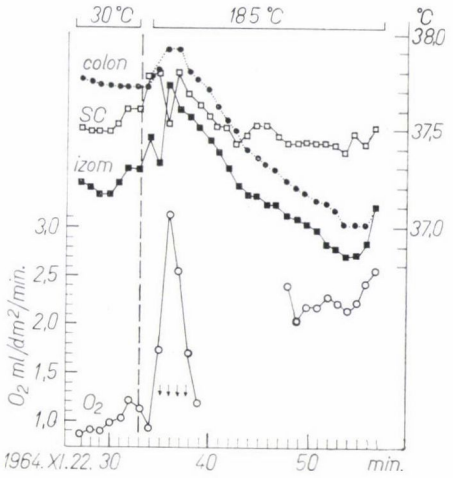
18. ábra. Tengerimalac, ♂, 260 g; 0,16 g urethan intraperitoneálisan (DONHOFFER és SZELÉNYI, 1965)

A 18. ábra tengerimalactól származik. Semleges környezetben a colon-hőmérsék volt a legmagasabb, hűvös környezetbe helyezéskor, noha eleinte nem emelkedett az összhőtermelés, a barna zsírszövet hőmérséklete csökkent legkevésbé, majd a hőtermelés fokozódásakor emelkedett és jóval meghaladta mind a colon, mind az alatta fekvő hátizom hőmérsékletét.

A 19. ábra ürgekísérletet demonstrál. Hűvös környezetben ebben az esetben is az interscapuláris zsírszövetben volt a legmagasabb a hőmérsék,

míg semleges környezetben ürgében is a colonhőmérséklet volt a legmagasabb.

E kísérletek kielégítően magyarázzák a funkcionálisan eviscerált, curare hatása alatt álló patkány thermoregulációs hőtermelését, mégpedig anélkül, hogy a bénult vázizomba kellene lokalizálni ezt a folyamatot. Mindez természetesen nem zárja ki a vázizomzat részvételét a didergés nélküli hőtermelésben, de mindent egybevetve nyomatékosan szól amellett, hogy legalábbis az adott feltételek között ez a szerep aránylag jelentéktelen.



19. ábra. Ürge, ♂, 180 g; 0,23 g urethan intraperitoneálisan (DONHOFFER és SZELÉNYI, 1965)

Az ismertetett kísérletek bizonyították, hogy

a) a hideghez nem adaptált patkány is rendelkezik nem didergéses hőtermeléssel,

b) a nem didergéses hőtermelés elsőrendű forrása nem a vázizomzat,

c) a barna zsírszövet alapvető szerepet játszik a nem didergéses thermoregulációs thermogenesisben.

IRODALOM

1. ABRAMSON, D. J., KAHN, A., TUCK, S. J., TURMAN, G. A., REJAL, H., FLEISCHER, C. J.: J. clin. Investig. **37,** 1031 (1958)
2. BROWN, E., MOTTRAM, R. E.: J. Physiol. (London) **152,** 68P (1960)
3. BRÜCK, K., WÜNNENWEBER, B.: Pflügers Arch. ges. Physiol. **283,** 1 (1965)
4. COTTLE, W. H., CARLSON, L. D.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. **92,** 845 (1956)
5. DAWKINS, M. J. R., HULL, D.: J. Physiol. (London) **172,** 216 (1964)
6. DEPOCAS, F.: Fed. Proc. **19,** Suppl. 5. p. 19 (1960)
7. DONHOFFER, SZ., SÁRDI, F., SZEGVÁRI, GY.: Nature, **203,** 765 (1964)
8. DONHOFFER, SZ., SZEGVÁRI, GY., VARGA-NAGY, I., JÁRAI, I., HAUG-LÁSZLÓ, Á.: Acta physiol. Hung. **13,** 37 (1958)
9. DONHOFFER, SZ., SZEGVÁRI, GY., VARGA-NAGY, I., JÁRAI, I.: Pflügers Arch. ges. Physiol. **265,** 97 (1957a)

10. Donhoffer, Sz., Szegvári, Gy., Varga-Nagy, I., Járai, I.: Pflügers Arch. ges. Physiol. **265,** 104 (1957b)
11. Donhoffer, Sz., Szelényi, Z.: Acta physiol. hung. közlés alatt 1965)
12. Dubois, E. F., Edbaugh, F. G. Jr,. Hardy, J. D.: J. Nutrit. **48,** 257 (1952)
13. Fedorov, N. A., Shur, E. J.: Amer. J. Physiol. **137,** 30 (1942)
14. Heroux, O., Hart, J. S., Depocas, F.: Amer. J. Physiol. **183,** 626 (1956)
15. Hull, D., Segall, M. M.: J. Physiol. (London) **175,** 58P (1964)
16. Jitáriu, P., Koch, A., Otto, E.: Pflügers Arch. ges. Physiol. **245,** 317 (1941)
17. Rein, H.: Ergeb. Physiol. **32,** 28 (1931)
18. Sellers, E. A., Scott, J. W., Thomas, N.: Amer. J. Physiol. **177,** 372 (1954)
19. Smith, R. E.: The Physiologist, **4,** 113 (1961)
20. Smith, R. E.: Fed. Proc. **21,** 221 (1962)
21. Smith, R. E.: Science, **144,** 1686 (1964)
22. Smith, R. E., Hock, R. J.: Science, **140,** 199 (1963)
23. Smith, R. E., Roberts, J. C.: Amer. J. Physiol. **206,** 143 (1964)
24. Szegvári, Gy., Várnai, I.: Acta Physiol. Hung. **22,** 65 (1962)
25. Szegvári, Gy., Várnai, I., Donhoffer, Sz.: Acta physiol. Hung. **19,** 287 (1961)
26. Szegvári, Gy., Várnai, I., Donhoffer, Sz.: Acta physiol. Hung. **23,** 49 (1963)
27. Wezler, K., Neuroth, G.: Zeitschr. ges. exp. Med. **115,** 217 (1949)

LABORATÓRIUMI ÁLLATOK ELŐÁLLÍTÁSÁNAK MODERN MÓDSZERE

M. Sabourdy

(Centre de Selection des Animaux de Laboratoire,
GIF-sur-YVETTE, S. et O. France)

I. Baktériumok és paraziták a laboratóriumi állatokban

A) *A fertőzés okai és forrásai*

A laboratóriumi állatok és a vadon élő populációk között ragályos, illetve parazitás megbetegedések szempontjából bizonyos különbség van. Ennek okai a következők:

A háziállatok populációsűrűsége jóval nagyobb a vadon élő állatokénál. Ezek az állatok zárt helyiségekben, ketrecekben élnek, ahol a mikróbák koncentrációja várhatóan magasabb, mint természetes körülmények között.

A természetes szelekció jelentősége kisebb a laboratóriumi körülmények között. A szelekció a természetben különböző tényezők, a fajok közötti, illetve valamely fajon belüli küzdelem révén hat. Elsősorban azok az állatok szelektálódnak, amelyek betegek vagy fertőzöttek, és azok az állatok, amelyeket genetikai alkatuk tesz valamely kórokozóval szemben érzékenyebbé.

A háziasított populációk egyedei általában hosszabb életűek és ez több alkalmat szolgáltat a fertőzésre. Mindnyájan tudjuk például, hogy milyen nehéz a két évesnél idősebb patkányokat a légzőrendszeri krónikus megbetegedésektől megvédeni.

Ezek a tényezők okozzák, hogy a laboratóriumi körülmények között felnevelt állatok általában fertőzöttebbek a vadon élőknél. Ezzel még nem akarom azt mondani, hogy a vadon élő populációk mindig kevésbé fertőzöttek, ez különösen nem igaz a vektorállatok útján terjedő betegségek, mint például a myxomatosis, vagy valamilyen köztigazda révén fertőző parazitás betegség, mint például a *Taenia crassicollis* és a máj cysticercosisa tekintetében. A laboratóriumban élő állatokat az épület és a ketrec megvédi a köztigazdákkal való érintkezéstől.

A laboratóriumi állatok kórokozóinak jó része — a salmonellák, pasteurellák, coccidiumok, leptospirák — nem ezeknek a populációknak speciális velejárója, megtaláljuk őket a laboratóriumi állatok vadon élő homológjainál is. Van azonban néhány fertőzés, amely kevésbé elterjedtnek látszik a vadon élő állatok között, így ecromeliát csak olyan vadon élő egerek között lehet találni, amelyek érintkezésbe kerültek fertőzött laboratóriumi törzsekkel (Gröppel, 1962). Viszont a lymphocytás choriomeningitis vírus gyakran megtalálható a vadon élő állatokban. A polyomavírus hemagglutinációval kimutatható vadon

élő törzseknél és zárt helyen élő törzseknél egyaránt (HUBNER, ROWE, HARTLEY LANE, 1962). A természetben található fertőzési gócok akkor jelentenek veszedelmet, amikor — különösen hideg évszakokban — a vadon élő rágcsálók emberlakta helyekre húzódnak be.

A laboratóriumi állatok fertőzésének forrásai lehetnek közvetlenek a vadon élő állatok behúzódása alkalmával közvetlen érintkezés következtében, vagy közvetettek a laboratóriumi állatoktól távolálló vadon élő fajok által megfertőzött takarmány vagy alom útján.

B) *A fertőzés különböző típusai. A fertőzés hatása a kísérletre*

Mindenki, aki dolgozott laboratóriumi állatokkal, megállapíthatta, hogy vannak a kifejezett járványokon kívül nem észlelhető és látens fertőzések. ANDREWS szerint (1957) a nem észlelhető fertőzés megfelel a kórokozóhordozás fogalmának mindazon fertőzések esetében, amelyekben a betegség jele nem észlelhető. A látens infekció elnevezés olyan észlelhetetlen betegséget jelez, amely krónikus, és amelyben a kórokozó hordozója és a mikroorganizmus között egyensúly jött létre. Ez a társulás azonban csak bizonyos körülmények között marad egyensúlyban. Szállítás, hőmérsékletváltozás, vagy aránylag csekély kísérleti beavatkozás következtében a látens fertőzés fellobbanhat és klinikailag is észlelhető betegséget okoz. A tenyészetben vagy a kísérleti állatállományban robbanásszerű járvány terjedhet el, amely gátolja a termelési program teljesítését, illetve tönkreteheti a kísérlet eredményét. Előfordult, hogy számos fertőzés csak olyan kísérlet következtében derült ki, amelynek egészen más célja volt.

Az állatállományban jelenlevő mikroorganizmusokat különböző kategóriákba lehet sorolni:

1. A tenyészetben gyilkos járványokat okozó mikroorganizmusok lehetnek olyanok, amelyek nem vezetnek kórokozóhordozáshoz, mint a kutyák de Carré betegsége, a myxomatosis, a tengerimalacok pseudotuberculosisa, a macskák fertőző leukopéniája stb. A kísérletező szempontjából ezek kevésbé jelentősek, mivel az állatokon a megbetegedés nyilvánvaló jelei látszanak és ezért el sem kezdik rajtuk a kísérletet.

A ragály okozók másik típusa járhat kórokozóhordozással.

Ilyen a szopóskori egérhasmenés (KRAFT, 1957), a salmonellosis, az ectromelia, amelyben a fertőzés után a hordozóban immunitás fejlődik ki (KIKUTH, GÖNNERT, 1940). Ezekben az esetekben a kísérletező használja a hordozó állatokat és így megtörténhet, hogy a pseudolymphocytás choriomeningitis vírusként vagy emberi hepatitis vírusként diagnosztizált kórokozó tulajdonképpen nem más, mint az ectromelia vírusa.

HAMMOND és BOHNOFF (1954) mutatták ki, hogy a salmonellát hordozó egerek besugárzási mortalitása 92%, míg az antibiotikumokkal kezelt kontroll állatok mortalitása csak 13% volt.

2. Vannak kórokozók, amelyek normális környezetben általában nem okoznak betegséget, ezért a tenyészetben nem okoznak problémát, de a kísérleti eredményeket befolyásolják. Ilyenek:

Eperythrozoon coccoides. Az egérhepatitis vírusa számos tenyészetben jelen van, anélkül, hogy megbetegedést okozna. Ha ezekben az állatokban *Eperythrozoon coccoides* is jelen van, amint ez gyakran előfordul, a hepatitis halálos kimenetelűvé válik (GLEDHILL és mtsai, 1952, NIVEN és mtsai, 1952).

Escherichia coli. SPF egerek bizonyos baktériumokkal szemben fokozottabban érzékenyek, illetve némely endotoxinnal szemben fokozottan rezisztensek. Ezt a tulajdonságukat azonban elvesztik, ha banális *Escherichia coli*val fertőződnek (DUBOS és mtsai, 1962).

Besugárzás hatására a gazda ellenállóképessége csökken, a baktériumflóra egyes elemeinek virulenciája megnő, ezért normális körülmények között apathogén baktériumok, mint a *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* a besugárzás után halálos kimenetelű bakteriémiát okozhatnak az egérben (MILLER és mtsai-1950). Ilyen valóban igazolt eset azonban csak kevés van.

3. Vannak általában kevésbé pathogén mikroorganizmusok, amelyek azonban kísérleti körülmények között megbetegedést okoznak, vagy módosítják a reakciókat.

A lymphocitás choriomeningitis vírusa, amely az emberben heveny betegséget okoz, számos fajban: egérben, tengerimalacban, majomban, kutyában jelen van és normálisan nem okoz semmilyen klinikai tünetet, bár GINSBERG (1957) szopósegerek boncolása alkalmával a vesében, májban és tüdőben mutatott ki fertőzés okozta léziókat. Ha ilyen egérbe steril bouillont vagy szérumot fecskendezünk intracerebrálisan, a fellobbanó betegség következtében az állat elpusztul.

A *Coxsackie* vírus elszaporodhat a pankreasban anélkül, hogy bármi tünetet okozna. Elég azonban, hogy a fertőzött állatot rövid időre 4 C ^{0}-os hőmérsékletre helyezzük, fellángol a betegség, elpusztul az állat és a vírus a májból és a vérből is kimutatható. Egérben a PPLO vírusnak az agyvelőre gyakorolt hatását elősegítheti a fertőzéses májgyulladás vírusának jelenléte (NELSON, 1957).

Az esetek jó részében a látensen fertőzött állatok félrevezető módon reagálnak a kísérleti beavatkozásra:

— Vagy fokozottabban érzékenyekké válnak az állatok: így lehetséges, hogy az egérhepatitis vírussal fertőzött egerek 8 nappal a fertőzés után 100-szor érzékenyebbek valamely bakteriális endotoxinnal szemben (GLEDHILL, 1958.).

— Vagy fokozottan ellenállóak; így a lymphocytás choriomeningitis vírussal fertőzött egerek ellenállóak a ló encephalitisének vírusával szemben (HOTCHIN, CINITS, 1958.)

Néhány más vírusok által elfedett inaktív vírus állatszöveteken keresztül

történő passage útján aktiválható. Bizonyos esetekben azonban lehetetlen megállapítani, hogy a diagnosztikai célból használt állatban fellépő betegség a beoltott anyagban levő vírusoktól ered-e, vagy a diagnosztikai célra használt állat látens fertőzése okozta-e?

II. A fertőzések kiküszöbölésének problémája

A laboratóriumi állatok fertőzésének útjait két nagy csoportra oszthatjuk:

Egy *endogénre*, ami lehet *vertikális*, az anyáról az utódra terjedő. Az anya már a születés pillanatában, vagy alig valamivel később fertőzi az utódot. Lehet horizontális, vagyis ketrecről ketrecre terjedő.

Az *exogén* fertőzések közvetlenül a vadon élő fertőzött állatokkal való érintkezés, vagy élő, illetve élettelen vektorok mint a gondozó, a takarmány, alom útján terjednek.

Azonban nemcsak arról van szó, hogy a laboratóriumi állatok tenyészeteinek fertőzéseit bizonyos elfogadható határok között kell tartani, vagyis valamely állatbetegség járványszerű kitörését kell elkerülni és a mortalitást minél alacsonyabb szinten tartani, amint az a tenyésztőnek érdeke. Az igazi probléma az, hogy az állatkolóniáknak nem szabad olyan kórokozókkal fertőzöttnek sem lenniük, amelyek jelenlétükkel nemcsak a termelést, hanem a kísérletet is zavarják. A pathogén mikroorganizmusokat kiküszöbölő módszernek két irányban kell hatnia:

Egyrészt teljesen ki kell zárni a meglevő mikroorganizmusokat a kolóniákból.

Másrészt fizikai barriert kell létesíteni az állatok körül, ami megakadályozza, hogy a külvilágból az állatházba mikroorganizmusok behatoljanak.

A kiirtás klasszikus módszereinek értékelése

A kiirtás klasszikus módszerei laboratóriumi állattenyészetekben több oknál fogva csak szűk határok között valósíthatók meg:

1. Ezek a tenyészetek számos egyedből állanak és gyakorlatilag lehetetlen, hogy a kolónia minden egyes tagjának mikroorganizmusait egyénileg határozzuk meg.

2. A látens fertőzések nem okoznak klinikai tüneteket és gyakran nincs értékelhető laboratóriumi módszer sem a megállapításukhoz. Az antitestképzés látens ectromelia, fertőzéses hepatitis, lymphocytás choriomeningitis esetében nagyon gyenge, vagy hiányzik.

3. Bizonyos látens infekciók már az élet első napjában, sőt az ellés pillanatában ráterjednek az újszülöttekre.

Az új módszerek

A fertőzések kiirtásának egyetlen radikális eszköze van:

1. Steril császármetszés vagy madarak esetében steril keltetés útján kell nyerni az állatokat azért, hogy a vertikális típusú fertőzést elkerüljük.

2. Az állatokat olyan környezetben kell tartani, amely kiküszöböli a csíramentes állatok újrafertőződésének lehetőségét.

Honnan ered ez a módszer?

PASTEUR elsőként már 1885-ben felvetette a csíramentesen felnevelt állatok gondolatát. PASTEUR akkor úgy gondolta, hogy az élet ilyen körülmények között lehetetlen. Elméletét arra a gondolatra alapította, hogy a fajok a csírákkal kialakult symbiosis következtében maradtak meg, és hogy ez az állapot ezután is nélkülözhetetlen a gazdaszervezet szempontjából. Ezzel szemben NENCKI (1886), majd NUTTAL és THIERFELDER (1895—97) bizonyították be, hogy a tengerimalacok képesek életben maradni baktériumflóra nélkül is.

KUSTER (1915) érdeme, hogy kialakította és elkészítette az első izolátort. Sikerült 30 napon keresztül egy csíramentes kecskét életben tartania. Ugyancsak ő látta meg elsőként azokat a csodálatos lehetőségeket, amelyeket a csíramentes állatok nyújtanak a biológiai és orvosi kutatás számára.

Ezután 1928-ig kellett várni, amíg REYNIERS kialakította módszerét, amelynek segítségével steril patkányokat, egereket, csirkéket, tengerimalacokat, nyulakat, kutyákat és macskákat tudott előállítani.

Később GLIMSTEDT, GUSTAFSSON Svédországban, MYAKAWA Japánban érdeklődnek különböző szempontból a steril élet iránt. Végül TREXLER készíti el a műanyaghártya izolátorokat.

Az új módszerekkel, ellenőrzött környezetben előállított állatok három csoportja ismeretes:

1. A csíramentes, germfree állatok, amelyek minden mikroorganizmustól mentesek.

2. Gnotobioták: olyan speciális környezetben felnevelt állatok, amelyeknek mikrofaunája és mikroflórája teljesen ismert és meghatározott.

3. *SPF állatok:* amelyek garantáltan mentesek egy vagy több betegséget okozó mikroorganizmustól, de amelyek nem szükségképpen mentesek más, nem meghatározott mikroorganizmusoktól. Meg kell jegyeznem, hogy a terminológia nem egységes, az SPF elnevezés a legkülönfélébb állapotokat fejezheti ki. Az angolszász irodalomban az SPF meghatározás a következő állapotokat fedi:

Császármetszéssel nyert — császármetszéssel indított tenyészet — császármetszéssel nyert és barrier mögött tartott — betegségtől mentes — minimálisan beteg — tiszta — specific pathogen free — pathogen free.

Mindez azt mutatja, hogy a laboratóriumi állatok tudományos kutatásá-

nak ez az ága még gyermekcipőben jár és kifejezésmódja nem alakult ki véglegesen. Ez annak is köszönhető, hogy még nincs általánosan elfogadott standard, amely meghatározza, hogy milyen tenyészetre alkalmazható az SPF kifejezés.

III. SPF állatok

A) *SPF kolónia létesítése*

Kétféle módon történhet: vagy germfree, vagy gnotobiota állatok segítségével. Ezek beszerezhetők a világ különböző részeiben számos laboratóriumban és tenyészetben. Néhány szoptatós anyára van szükség, amelyek képesek a leendő SPF kolónia különböző törzseinek újszülötteit táplálni. Ezeket az újszülötteket steril császármetszéssel nyerik, a módszert az irodalomban már sokan leírták. Nem lehet eléggé hangsúlyozni, hogy az aszeptikus feltételeket szigorúan be kell tartani és a sterilitást ellenőrizni. A PPLO-t már a női ivarszervekben kimutatták (Graham, 1963). Ha az SPF kolónia germfree állatokból indul ki, az újrafertőződés problémája rendkívül fontos. Ha a germfree állatokat frissen sterilizált tartályokban szállítják, a túlélés eshetőségei jók. Ezzel szemben, valamely többé-kevésbé fertőzött tartályban történő szállítás 100%-os mortalitást eredményezhet.

Minden attól függ, hogy a germfree állat milyen mikroorganizmussal találkozik először. Ezért nélkülözhetetlen, hogy az újrafertőződést ellenőrizzük. A flóra végső összetétele különböző mikroorganizmusok küzdelmének eredménye, ezért kell már az induláskor szelektált, nem-pathogén flórát implantálni az állatba.

Alkalmazhatók olyan apathogén baktériumok, amelyek megváltoztathatják a vékonybél membránt és csökkenthetik a coecum méretét. Bizonyos bifermentáló, nem-pathogén clostridium törzsekkel történő monoinfekció alkalmassá teheti a germfree patkányt a konvencionális környezettel való találkozásra.

Felvetődik a kérdés, hogy milyen az SPF állatok számára optimális flóra? Ebben a tárgykörben még nincs egyetlen pontos adatunk sem. A baktériumflóra létrejötte önmagában egycsapásra meghatározná az állatok „státusát". A *Lactobacillusok* különböző fajtáit tudjuk javasolni, minthogy ezek apathogének és patkányok, illetve egerek normális bélflórájához tartoznak. Azok az állatok, amelyek ennek a baktériumnak homológjából álló flórával rendelkeznek, átszállíthatók az SPF-magba.

1. *Az SPF mag*

Ha megszereztük a szükséges adatokat azokról a különböző törzsekről, amelyeket az SPF kolóniában tartani kívánunk, megteremtjük a törzs magvát, amelynek segítségével a további szaporulatot előállítjuk. Ezt a magot

kell a legszigorúbban ellenőrizni. A mi központunkban a különböző törzsek beltenyészete egyben az SPF mag is, ezt mikrobiológiai és genetikai szempontból egyaránt nagyon szigorúan ellenőrizzük.

Az SPF magot kétféleképpen lehet a fertőzéstől megvédeni.

Lehet őket nagyméretű — 2,5×2,10 m — műanyagizolátorokon belül tartani.

Tarthatók olyan szobában, ahová a személyzet csak teljesen zárt, búvárruhaszerű öltözékben léphet be.

Az előbbi módszer előnye, hogy az izolátor belsejében uralkodó túlnyomás miatt a fertőzés veszélye még perforáció esetén is kicsi. Ezért elegendő, ha az állatgondozó technikus egyszerű maszkot visel. Hátránya, hogy ilyen izolátorban csak kisszámú ketrecet lehet elhelyezni.

A második módszer mellett a fertőzés kockázata lényegesen jelentősebb. A kockázat főleg abban rejlik, hogy a búvárruha belsejében van túlnyomás, ha a ruha perforál, a szoba könnyen emberi eredetű kórokozókkal fertőződik. Előnye, hogy az ilyen szoba befogadóképessége lényegesen nagyobb, mint egy izolátoré, az üzemeltetés kevésbé költséges.

2. *SPF szaporító tenyészet*

A tökéletesen ellenőrzött mag továbbszaporítása az SPF szaporítótenyészetben történik. Itt merül fel az elhelyezés kérdése. Lényeges a tökéletes izoláló barrier megteremtése. Szükséges, hogy helyiségeink tökéletesen zárjanak, hogy az állatszobákat tápláló levegőt a kondicionáló berendezésbe épített bakteriológiai szűrőkkel csírátlanítsuk. Hővel vagy egyéb csíraölő eszközökkel kell kezelni az állatházba bekerülő minden tárgyat. A személyzetnek szigorú higiénes szabályokat kell betartania. Az öltözőknek legyen egy része az utcai ruhák számára, egy tussolója, majd ezután egy öltözője, ahol a dolgozók az állatházi ruhát vehetik fel. Az SPF szaporítótenyészet tenyésztő helyiségeinek tervezésében főként a munkaszervezés szempontját kell figyelembe venni. A nézetek között azonban számos ellentmondás van. A lényeges kérdések a következők:

Egy vagy több technikus dolgozzék-e egy tenyésztőhelyiségben? Milyenek legyenek a tenyésztőhelyiségek optimális méretei?

A berendezési tárgyakat — ketreceket, palackokat — mossák és fertőtlenítsék-e?

A személyzet az ellenőrzött zónán belül vagy kívül étkezzék-e?

A helyiségek méreteit azután kell megállapítanunk, ha az ott foglalkoztatni kívánt technikusok számát már meghatároztuk.

Ha a tenyésztőhelyiséget akkorára tervezzük, hogy egy technikus el tudja látni, elméletileg csökken az emberi eredetű fertőzés valószínűsége. Ez az előny azonban nem reális, mert szabadságolások vagy betegség időszakában elkerülhetetlen, hogy másik technikus lépjen be a helyiségbe. Ezért úgy

gondoljuk, hogy az egyes szobák méreteit úgy kell helyesen megválasztani, hogy 2—3 technikusnak adjon munkát. A technikusok mindegyike bármelyikükkel helyettesíthető anélkül, hogy idegen technikusnak kelljen a szobába lépnie.

Arra a kérdésre, hogy mossuk-e a berendezési tárgyakat, a legellentmondóbb válaszokat kapjuk. Az egyik legjelentősebb amerikai SPF tenyészetben nem mossák sem a ketreceket, sem a palackokat, mondván, hogy kontrollált és meghatározott környezetben az összes egyed mikróbaflórája azonos. A szkeptikusok viszont, akik kételkednek a barrier áthatolhatatlanságában, úgy gondolják, hogy a mosás és rendszeres fertőtlenítés a berendezési tárgyak csíraszámát minimálisra csökkenti. Szerintük nem kívánatos, hogy akár az apathogén csírák is elszaporodjanak a barrieren belül elhelyezkedő tenyészet más részeiben.

Ha azonban mégis az első — mosás nélküli — megoldást választjuk, még fontosabb, hogy a különböző tenyésztőhelyiségek közös szolgáltató részlegeit megfelelőképpen rendezzük be, mivel ezek révén a tenyésztőhelyiségek közlekednek egymással. Ha a mosás megszűnt, akkor megszűnt a tenyészszobákból a mosóhelyiség felé, illetve a mosóhelyiség felől a tenyész-szobák felé irányuló forgalom is. Azokat a folyosókat, amelyeken normális körülmények között a takarmányt és almot szállítják, automatikus szállítóberendezéssel — transzportszalaggal, vagy szívócsőrendszerrel — lehet helyettesíteni.

Étkezzék-e a személyzet az ellenőrzött zónán belül?

Ha a személyzet az ellenőrzött zónán kívül étkezik, naponta kétszer kell a fertőtlenítő zsilipen keresztülhaladniuk. Tisztában kell lennünk azzal, hogy ebben az esetben a külső mikroorganizmusok behurcolásának lehetősége megnövekszik, sőt megkétszereződik, mégha a szükséges óvatossági rendszabályokat be is tartjuk.

Ha a személyzet az ellenőrzött zónán belül étkezik, két megoldás lehetséges:

Az egyik, hogy az élelmet mindenki olyan zárt tasakban hozza be, amelynek felszíne sterilizálható. Az a kockázat, hogy az élelemben olyan kórokozók vannak, amelyek a rágcsálókat megfertőzhetik, ugyan minimális, de többé-kevésbé megvan.

A másik esetben a kontrollált zónán belül egy konyhában készítik el a személyzet élelmét. Az ilyen rendszer lehetővé teszi az élelem ellenőrzését, autoklávozott, vagy olyan ételek kiválasztását, amelyek valószínűleg nem fertőzöttek. Ez a legbiztosabb megoldás.

B) *Az SPF állatok felhasználásának problémái*

közül a legfontosabb, hogy mennyire őrzik meg az SPF állatok ezt a sajátságukat, miután konvencionális környezetbe kerülnek.

Ez a konvencionális környezettől és különösen attól függ, hogy az állatok érintkeznek-e erősen fertőzött konvencionális állatokkal?

Elméletileg az ember azt várná, hogy az SPF állatok, amelyeket császármetszéssel, sterilen nyertek, mikrobiológiai szempontból ellenőrzött környezetben tartottak, immunológiai védekező készsége kevésbé fejlett. A valóságban azonban számos amerikai tenyészet és saját, jóval csekélyebb tapasztalataink ezt szemmelláthatóan nem támasztják alá. SPF patkányokat egy szobában helyeztünk el olyan patkányokkal, amelyeken krónikus légzőrendszeri betegség tüneteit figyeltük meg. Az SPF patkányokon csak több hét múlva lehetett hasonló tüneteket észlelni és nem pusztultak el a betegség következtében.

A laboratóriumi állatok fertőzéseinek terjedéséhez javarészt az szükséges, hogy az állat fertőzött állattal, rovarokkal, vad rágcsálókkal közvetlenül érintkezzék. Az élettelen hordozók — a takarmány, az alom — a salmonellosis, paraziták terjesztésében hasonlóképpen jelentősek lehetnek. A levegőn keresztül terjedő fertőzés csak néhány kórokozó, mint pl. egerek szopóskori hasmenésének vírusa terjesztésében játszik szerepet. Ez azt jelenti, hogy a felhasználás szintjén nem szükségesek ugyanolyan tökéletes berendezések, mint a tenyésztés szintjén. A jó konvencionális tenyészetre jellemző higiénés viszonyok, mint a takarmány autoklávozása, megfelelően fertőtlenített alom használata, a rovarok és vad rágcsálók kizárása a kísérleti felhasználás folyamán elvileg elegendőek az SPF állatok tartására. A legrosszabb, ami megtörténhet, az az, hogy az SPF állatok elveszítik SPF jellegüket és konvencionális állatokká válnak. Ritka az az eset, hogy a konvencionális környezetbe került állatokon komoly mortalitással járó állatbetegséget lehetne észlelni. Előfordult azonban, hogy SPF patkányok 4—5 nap alatt elpusztultak virulens pneumococcus fertőzés következtében, amely közös szellőzőrendszer útján a kísérleti macskáktól eredt.

Természetesen érdekünk, hogy a tenyészetétől kevéssé elütő környezetet teremtsünk, ha az SPF állatokat hosszú időtartamú kísérletekre, pl. krónikus toxicitási vizsgálatokra kívánjuk felhasználni. Azon SPF állatokat amelyekből további tenyészetet kívánunk alapítani, szintén fertőzéstől óva, speciális levegőszűrővel felszerelt tartályokban kell szállítani.

C) *Az SPF és konvencionális állatok közötti különbségek*

Az SPF patkányok növekedése gyorsabb, mint a konvencionális patkányoké. Az SPF kolóniák termelékenysége — amely bizonyos mértékben a kolónia egészségi állapotát tükrözi, — általában jobb a konvencionális állatokénál. Ha egy törzsből származó állatokat tartunk SPF és konvencionális körülmények között, a leválasztott növendékek száma az SPF állatoknál 22%-kal nagyobb Foster (1962) megfigyelése szerint. Az SPF patkányok egy nősténye és egy hétre számított termelése 40%-kal magasabb (Foster, 1962).

Ez arra utal, hogy:

1. a leválasztott növendékek életrevalóbbak,

2. a magzatok felszívódása és a vetélések százalékos aránya jóval kisebb SPF körülmények között.

Foster (1962) az azonos törzsből származó patkányok növekedési adatait hasonlította össze és megállapította, hogy 8 hetes korban az SPF hímek testsúlya kb. 25%-kal, az SPF nőstényeké kb. 30%-kal magasabb a konvencionálisakénál. Felvetődik az a kérdés, hogy az észlelt növekedésbeli eltérés megegyezik-e azzal, amit bizonyos állatfajoknál az antibiotikum kiegészítéssel értek el?

Érdekes az SPF és a konvencionális egerek növekedését összehasonlítani. 15% kazeint és cystin kiegészítést tartalmazó, kereskedelmi forgalomban levő, vagy semiszintetikus diétán az SPF egerek növekedése jobb. Ha a kazeint 15% sikér helyettesítette, az SPF egerek testsúlya tovább gyarapodott, míg a konvencionális egerek testsúlya gyorsan esett (Dubos, 1960). Az SPF és konvencionális állatok közötti különbségek tárgyalásakor megemlíthetjük az SPF állatokban a coecum jelentős megnövekedését. A mi központunk SPF patkánykolóniájában az állatok vakbele a konvencionális állatokénak kb. háromszorosa. A további kutatás folyamán kell meghatározni azt a mikróba fajt, amely minimális és optimális flórát létesít és amely alkalmas ennek a coecumhpypertrofiának csökkentésére. Az SPF állatok gamma-globulin szintje a konvencionális és a germfree állatoké közé esik (Sacquet, 1961).

D) *Az SPF állatok felhasználására*

vonatkozóan kevés rendszeres összehasonlító tanulmányt végeztek. Általában erősödik az a felfogás, amely szerint hosszú időtartamú kísérletek, mint krónikus toxicitási vizsgálatok, gerontológiai vizsgálatok céljaira az SPF állatok megfelelőbbnek bizonyulnak a konvencionális állatoknál. A gyógyszerek és az élelmiszeriparban használt kémiai anyagok ellenőrző vizsgálataira vonatkozó törvényes előírások egyre szigorúbbak és hosszú időtartamú kísérleteket írnak elő. Az Egyesült Államokban ehhez 2 évig tartó kísérleteket kell végezni patkányokon. Ehhez szinte lehetetlen mást, mint SPF állatot használni. A konvencionális patkányoknak csak aránylag kis százaléka éri el a 2 éves kort, mivel az idősebb állatokon krónikus légzőszervi megbetegedés lép fel, amely rendszerint halálos kimenetelű tüdőgyulladássá fejlődik.

Láttuk, hogy még aránylag gyenge kísérleti stress is fellobbanthat valamely lappangó fertőzést. Még súlyosabb kísérleti stressek esetében, mint amilyeneket a radiobiológiában és rákkutatásban alkalmaznak, az SPF állatok lényegesen jobban beválnak. Azokban a kísérletekben, amelyek folyamán az immunológiai védekezőképesség csökken, mint a heterológ tumorok átültetése alkalmával a kortizonkezelés következtében, az SPF állatok túlélési százaléka jóval magasabb. Olyan sebészeti beavatkozások — hypophysectomia,

mellékveseirtás —, amelyek mortalitása konvencionális állatok között 10—20%, az SPF állatok között alig 2—3% mortalitást okoznak (FOSTER, 1962). Az ételnarkózis túlélése szintén jobb SPF állatok között, míg a krónikus légzőszervi betegségben szenvedő patkányok között az altatás következtében beálló veszteségek nem elhanyagolhatóak. Végül meg kell említenünk az SPF állatok sajátos kísérleti reakcióit.

Az SPF egerek jóval érzékenyebbnek mutatkoznak a konvencionális egereknél *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium tuberculozis*sszal szemben, akár valamely meghatározott dózis beadás utáni túlélés időtartamát, akár a dozis letalis minima-t vesszük tekintetbe (DUBOS, 1960). Ezzel szemben az SPF egerek kevésbé érzékenyek *Klebsiella pneumoniae*-ból vagy *Escherichia coli*-ból készített endotoxinokkal szemben.

A belégzett anaestheticumokkal szemben különbség van az SPF és a konvencionális egerek között. Az SPF egerek számára alacsonyabb koncentráció már elegendő az anaesthésiához, viszont a letális adag jóval magasabb, tehát a terápiás sáv szélesebb (DAVEY, 1962).

Összefoglalás

A laboratóriumi állatok tenyésztésének új, modern módszere ismert, meghatározott állatanyagot bocsát a kutatók rendelkezésére:

1. Germfree, vagyis a legmagasabbrendű, teljesen tiszta, csíramentes állapotban élő állatokat. Ezek az állatok nélkülözhetetlenek bizonyos alapkutatásokban, amelyek alkalmával valamely mikroorganizmus pontos szerepét kívánjuk tisztázni valamely élettani vagy kórélettani folyamatban. Ezek az állatok természetesen nagyon különböznek a konvencionális állatoktól: vakbelük hypertrofizált, a bélfaluk vékony, a légutak és az emésztőrendszer nyirokcsomói kevésbé fejlettek. Csak bizonyos határozott kutatási típusok céljaira alkalmazhatóak.

2. Az SPF-nek nevezett állatok kezdik a konvencionális állatokat kiszorítani. Ezeket az állatokat steril császármetszéssel nyerik és olyan helyiségekben tartják őket, amelyekben minden intézkedés megtörtént annak érdekében, hogy a fertőzést elkerüljék. Ezeket a kolóniákat olyan állatokból tenyésztik tovább, amelyeket minimális, nem-pathogén flórával fertőztek. A fizikai barriernek jól kell zárnia ahhoz, hogy ez a flóra fennmaradjon, de az élelemben, amelyet általában pasteurizálnak és nem sterilizálnak, jelenlevő spórás baktériumok, a személyzet által behurcolt fertőzés következtében ez a flóra módosulhat. Nem beszélhetünk SPF tenyészetről, ha a flóra nem pontosan meghatározott, továbbá, ha a tenyészet nem mentes olyan pathogén csíráktól, amelyekkel a konvencionális tenyészetekben gyakran találkozunk: ectromelia, PPLO, Nelson vírus, salmonellosis stb., valamint nem mentes minden külső és belső

parazitától. Ilyen állatokat ma már nagy mennyiségben gazdaságos módon lehet előállítani. Ez a minőségi laboratóriumi állatok hatalmas fejlődésének egyik oka.

3. A termelés a jövőben valószínűleg a gnotobioták, vagyis az olyan állatok termelésének irányába halad, amelyeknek konstans és jellemzett flórájuk van. Bár jelenleg az ilyen állatok előállítása nem jelent nehézséget, még nem tenyésztjük őket nagy mennyiségben. Ha azt akarjuk, hogy az állatok valóban tökéletesen jellemzett és ismert flórával rendelkezzenek, a külvilágtól és különösen az emberi fertőzéstől tökéletesen el kell őket szigetelni. Ezért vagy nagy műanyag izolátorokban, vagy teljesen ellenőrzött helyiségekben kell őket tartani, ahová személyzet csak búvároltözet jellegű, teljesen zárt ruhában léphet be.

Kétségtelen, hogy attól kezdve, amikor a kutató nagy mennyiségű genetikailag jellemzett és különböző, ugyancsak pontosan jellemzett flórával rendelkező állatokat használhat fel kutatás céljaira, a biológiában és orvostudományban gyors fejlődés fog mutatkozni. Ez a lehetőség már nem tudományos utópia, hanem a közeljövőben megvalósulhat.

IRODALOM

Armstrong, C., Sweet, L. K.: Pub. Hlth. Rep. **54,** 673 (1939).
Davey, D. G.: Proc. R. Soc. Med., **55,** No 4: 256—9 (1962).
Dubos, R. J., Russell, W., Schaedler, M. D.: J. Exper. Med., **111** No 3: 407—17 (1960).
Foster, H. L.: in „Problems of Lab. Anim. Dis." pp. 249—59, ed. Harris (1962).
Ginsberg, H. S.: Symp. On Latency and Masking in Viral and Rickettsial Infections, p. 157, ed. Burgess, Minneapolis (1957).
Gledhill, A. W.: J. Gen. Microbiol., 18 No XVII. (1958).
Gledhill, A. W. et al.: Lancet, ii 509 (1952).
Glimstedt, G.: Anat.—Anz., **75,** 79—89 (1932).
Graham, W. R.: Lab. Anim. Care, **13** No 5 719—24 (1963).
Gröppel, K. H.: Arch. Exper. Veter **16,** No 2 (1962).
Gustafsson, B. E.: Nord. Med. **32,** 2665 (1946).
Hammond, C. W., Bohnhoff, M.: Proc. Anim. Care. Panel, **4,** 135—45 (1954).
Huebner, R. J., Rowe, W. P., Hartley, J. W., Lane, W. T.: CIBA Found. Symp. on Tumour Viruses of Murine Origin, pp. 314—28 (1962).
Kikuth, W., Gönnert, R.: Arch. Virusforsch. I, 295 (1940).
Kraft, L. M.: J. Exper. Med. **106,** 743 (1957).
Küster, E.: Arb. Kaiserl. Gesundheitsame, **48,** I-79 (1914).
Miller, C. P., Hammond, C. W., Tompkins, M.: Science, **111,** 540—1 (1950).
Miyakawa, M.: Trans. Soc. Pathol., Jap. **40,** 227 (1951).
Nelson, J. B.: J. Exper. Med. **106,** 179—90 (1957).
Nencki, M.: Arch. Exper. Pathol. Pharmakol. Naunyn-Schmiedeberg's, **20,** 385—8 (1886).
Niven, J. S. F., et al.: Lancet, ii 1061 (1952).
Nuttal, G. H. F., Thierfelder, M.: Z. Physiol. Chem. **21,** 109—21 ibid **22,** 62—73 ibid **23,** 231—5 I—1895 II—1896 III—1897.
Pasteur, L.: C. R. Acad. Sci., **100,** 68 (1885).
Reyniers, J. A.: „Micro-manipulation" MS Thesis Univ. Notre-Dame, Ind. (1930).
Rosicky, B.: in „Problems of lab. anim. dis.", pp. 27—38, ed. Harris (1962).
Sacquet, E.: Ann. Inst. Pasteur, **101,** 703—21 (1961).
in „Problems of Lab. Anim. Dis." pp. 57—71, ed. Harris (1962).
Texrler, P. C.: Proc. Anim. Care Panel, **9,** 119—25 (1959).

A LABORATÓRIUMI ÁLLAT — MŰSZER ÉS VEGYSZER

W. Lane-Pettner

(Laboratory Animals Centre M. R. C. Laboratories Carshalton, Surrey, England)

Még ma is sok ember számára érthetetlen, ha az orvostudományban, ahol az ember áll az érdeklődés központjában, illetve az állatorvostudományban, ahol a gazdasági állat az elsődleges kérdés, olyan kísérleteken keresztül kívánják elérni az ismeretek előrehaladását, amit egéren, patkányon, vagy más távolálló állatfajon végeznek. A biológusok már olyannyira hozzászoktak ehhez a gondolathoz, hogy egy patkánykísérlet már csaknem szokásnak tűnhet. Éppen ezért azt kell javasolnom a biológusoknak, hogy tegyék fel maguknak a kérdést minden munkájuk előtt, sőt gyakran menetközben is, hogy vajon miért állatot használnak a kísérlet céljára és mi vezérli őket az éppen kiválasztott állatfaj használatára. Vajon mit remélnek elérni az állatkísérletben és mi az, amire ez úton nem nyerhetnek választ. Erről a kérdésről egy kollégám azt mondta, hogy egy gyógyszernek állatokon történő kipróbálása csak annyit mond meg, hogy vajon érdemes-e azt kipróbálni az emberen is. És ez igaz, hiszen mi nem az egerek, vagy éppen a kutyák számára akarunk életbiztonságot nyújtani, hanem kizárólag, vagy elsősorban az ember számára. (1)

A laboratóriumi állat egyrészről műszer: azaz, jelző vagy mérő berendezés, amelyet kényes tudományos munkában használunk és amelynek kérdéseket lehet feltenni: vajon karcinogén-e valamely anyag? — vajon mennyire hatásos egy bizonyos ellenanyag? — és elvárjuk, hogy kérdéseinkre választ adjon. A laboratóriumi állat másrészről vegyszer is: részt vesz a reakciókban és elfogy magában a folyamatban — mint például az LD 50 vizsgálatban. Számos műszer igen bonyolult, azonban egyetlen egy sem annyira bonyolult, mint a biológiai rendszer, vagyis maga a laboratóriumi állat. Igen sok vegyszer bomlékony, változékony és drága, mint maga a laboratóriumi állat. Joggal el kellene ítélni minket, ha egy drága és kényes spektrofotométert nedves pincében tartanánk, vagy elmulasztanánk egy bomlékony vegyszert vagy biológiai reagenst a megfelelő hőmérsékletű és páratartalmú környezetben tartani. Ámde ugyanilyen, ha ugyan nem nagyobb esztelenséget követünk el az állatokkal is és könnyelműségünk még súlyosabb, hiszen tudván tudva érzékeny lényekkel dolgozunk. Vajon nem humanitás nyilvánul-e meg abban,

ha az állatokat (amelyek az ember célját szolgálják) a legnagyobb gonddal kezeljük? Az állatokat — amelyeket bizony gyakran gondatlanul kezelünk — analógokként használjuk és azt várjuk, hogy hasonlóan viselkedjenek más rendszerekhez (mint például az emberhez), amelyeket nem lehet közvetlenül megfigyelni. Mivel az állatok lényegesen drágábbak, változóbbak és bonyolultabbak, mint a legtöbb fizikai, kémiai vagy éppen mikrobiológiai rendszer, egyetlen kutató sem választaná éppen ezeket az analógokat, ha nem kényszerítenék rá döntő okok, és ha nem volnának a legtöbb, ha ugyan nem valamennyi munka számára pótolhatatlanok. Ezek az állatok ma már összehasonlíthatatlanul jobbak és hasznosabb eredményeket adnak, mint azt a múltban megszoktuk; és ez az, ami arra csábíthat minket, hogy egyre nagyobb mértékben használjunk állatot. Így azután, ha az állatfelhasználás során, az állatfaj megválasztásában és a kísérleti tervek készítésekor nem gyakorlunk a jelenleginél sokkal nagyobb önkritikát, akkor az a veszély fog fenyegetni, hogy az állattermelés, az állatház szükségletei merítik ki az erőforrásokat és háttérbe szorulnak a laboratóriumok, ahol ezeket az állatokat felhasználják. Ezt még a leglelkesebb állatbarát, még én magam sem kívánhatnám.

Azokban a kutatásokban, amelyekben nem használható közvetlenül ember vagy gazdasági állatfaj, a kézenfekvő analógia: a laboratóriumi állat. Ember például nem használható ott, ahol a vizsgálat előre nem látható veszélyt jelenthet az életére vagy az egészségére (ez az a pont, amely az állatkísérletek jogosultságát is egykor kétségbevonhatóvá tette, — de ez ma már nem áll fenn). Nem lehet embert vagy sok gazdasági állatot használni akkor, ha a kísérletben egy csoport olyannyira hasonló lényre van szükség, mint amilyenek az azonos alomból származó állatok, vagy a beltenyésztett törzsek, különösen a kvantitatív vizsgálatokban. Az ember használhatatlan bizonyos kísérletekre a szociális viselkedés miatt is: az elkülönített emberen végzett kísérletek eredménye csak akkor lenne igazán elfogadható, ha az illető egyén valódi remete, nászutas pár, zeneszerző, vagy esetleg tudományos tételek szerzője. És végül, gátolja az ilyen munkát az is, hogy az ember és a nagy háziállatok tartása igen drága és csak nagyon kevés laboratóriumnak van módja arra, hogy olyan szabadon gazdálkodjék velük, mint például az egerekkel.

A helyettesítő tehát rendszerint a patkány vagy az egér, amely emlős, viszonylag kevéssé specializált, mindenevő és többnyire feltételezhető, hogy olyan választ ad a behatásokra, mint maga az ember. Mindaddig, amíg az ellenkezője be nem bizonyul, feltételezhető, hogy bizonyos mértékű hűség, hasonlóság van az ember helyettesítésében úgy, hogy kereshetjük azt a testsúlyra számítható adagot, amelynek alapján extrapolálhatunk az egérről vagy patkányról az emberre. Gyakran csalódunk akkor, amikor azt látjuk, hogy ez a hasonlóság csak csekély, sőt esetenként hiányzik. Hiszen az egér és a patkány megél teljesen C-vitamin-mentes táplálékon, amely az emberen, a

majmon és a tengerimalacon skorbutot okoz. A morfin depresszáns és narkotikum az egér, a kutya és az ember számára, viszont izgatószer a macska számára. A penicillin nem-toxikus az emberre és az egérre, de halálos a tengerimalacra. Az atropin lényegesen kevésbé toxikus a nyúlra, különösen a fiatal állatra, mint az emberre, vagy a legtöbb más állatfajra. Ezeket a példákat vég nélkül lehetne sorolni. És mégis ésszerű alapfeltételezés, hogy hasonlóságot tételezzünk fel a kísérleti állat és a legfontosabb faj között, amely rendszerint maga az ember.

Ha az egyes reakciókat egyenként figyeljük meg, az általános hasonlóság sokkal kevésbé fontos, mint az egyes részletkérdésekre vonatkozó precíz mimikri. A protozoák például sokkal hasznosabbak lehetnek, mint a rágcsálók az egyes gyógyszerek teratogenitásának megállapítására (2), vagy a cigarettafüst karcinogén voltának vizsgálatára (3). A csirke sokkal hasznosabb állat a maláriaellenes gyógyszerek vizsgálatában, mint az emlősök, de a mikroorganizmusoknál is jobb a B 12 vitamin meghatározása során (4). A poliovakcina ártalmatlanságának elbírálására majmot kell használnunk, a tetanusz antitoxin titrálására viszont az egér szolgál. Pirogénvizsgálatra a nyúl, míg bizonyos érzékenységi kísérletekre — az anafilaxiára való hajlamossága miatt — a tengerimalac a legmegfelelőbb; ugyanakkor a purgatív gyógyszerek vizsgálatára patkányt használunk. Mindezek a példák azt mutatják, hogy egy állatfajt nem az emberhez való általános hasonlósága miatt választunk ki valamely kísérletre, hanem azért, mert erre az egyes reakciókban megmutatkozó válaszadóképességük különösen alkalmassá teszi azt.

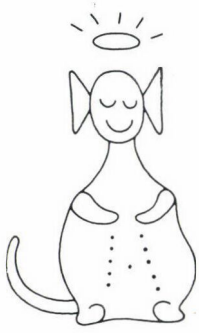
Az ilyen jellegű gondolatok arra indították egyik kollégámat, hogy meghatározza, milyen lenne a kemoterápiás szűrésekre Ideális Experimentális Állat, rövidítve: IEA (Ideal Experimental Animal) [5].

Az Ideális Experimentális Állat legyen körülbelül 30 gramm; legyen szőrtelen és átlátszó bőrű, hogy vérerei és szervei kívülről is láthatók legyenek. A karma és a foga legyen csökevényes, legyen szelíd és barátságos hajlandóságú. A füle legyen nagy és könnyen véreztethető. A farka legyen megfelelő hosszúságú és sok nagy véna legyen benne. Jóllehet az állat szőrtelen, olyan kitűnő legyen a hőszabályozása, hogy ha az állatszoba hőmérséklete télen fűtéshiány miatt leesik, ez ne okozzon károsodást az állaton. Nagyon kellemes lenne, ha az IEA-nak olyan honvágya lenne, hogy ha valamilyen okból elhagyta a ketrecét, tudja, hogy melyik ketrecbe kell visszamennie. Fogyassza el boldogan a teljesen szintetikus és a gyógyszerekkel kevert táplálékot, továbbá helyezze el vizeletét és bélsarát az erre a célra odakészített edénykében. — Természetesen az IEA legyen jó anya, rövid vemhességi idővel. Az alomnagyság legyen mindig pontosan 10. Az alom álljon 10 egynemű állatból, vagy legfeljebb kétszer ötből, ahol az egyik kvintett hím s a másik pedig nőstény legyen." (1. ábra)

Nyugodtan mondhatom, hogy ilyen állat nincs és azt hiszem, nem is

lesz. És mégis komoly nehézségeim voltak, amikor néhány tudóst meg akartam győzni, akik azt kérték, hogy nekik egér vagy patkány törzs kellene — „általános célra". Senki sem várhatja, hogy egy törzs vagy faj tökéletes hasonlósággal vagy ideális megkülönböztető-képességgel rendelkezzék. Az „általános célra szolgáló" törzs éppolyan mitikus. mint az IEA.

Éppen ellenkezőleg, a biológusnak nem csupán egyetlen műszerre vagy vegyszerre van szüksége, hanem arra, hogy számos műszer, illetve vegyszer között választhasson. Ilyen szempontból nem különbözünk a vegyészektől vagy a fizikusoktól. Amíg azonban nekik nagy gyárak állnak rendelkezésükre, ahol műszereket terveznek és készítenek, illetve vegyszereket termelnek és tisztítanak, addig nekünk farmjaink vannak, amelyek a biológia nevének meg-



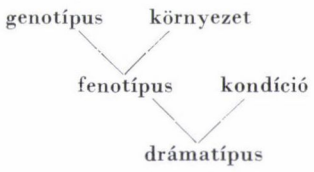
1. ábra

csúfolásai, állatházaink, amelyek mind az öt érzékszervünket sértik, dolgozóink, akiket már más foglalkozásokból kizártak, pénzügyi ellátmányunk, amely olyan, mint egy rossz tréfa — és néha olyan kísérleti eredményeink, amelyek miatt a fizikusok és a kémikusok visszautasítják annak elismerését, hogy a biológia valóban egzakt tudomány. Mindezeket a tényezőket meg lehetett találni és meg lehet még ma is találni: ennek ellenére az 1960-as éveket mégis úgy tárgyaljuk, mint a biológia áttörésének évtizedét.

Milyen tehát a kísérleti állat? Éppolyan, mint bármely más állat, az őt körülvevő környezet és a szüleitől nyert genotípus terméke. E kettőt együttesen fenotípusnak nevezzük. Jóllehet a genotípus (elvben) nem változik az állat életén keresztül, az állat növekszik és állandóan változik abban a környezetben, amely maga is állandóan változik; így tehát az egyik napon észlelt fenotípus sohasem azonos azzal, mint amit a másik napon észlelünk. Ha a megfelelő fenotípusú állatot kiválasztottuk, azt így vagy úgy előkészítjük, kondicionáljuk a kísérletre. Az állatot külön ketrecben helyezhetjük el, injiciálhatjuk, érzéstelenithetjük, megborotválhatjuk és így tovább, aszerint, hogy a kísérletben mire van szükség. Így aztán a kísérlet előkészítése folyamán a fenotípus is megváltozik és létrejön az ún. drámai típusú állat, amely az igazi kísérleti állat (2. ábra).

Íme ez az állat és nem a szülei, vagy a többi állat, amely visszamaradt az állatházban. Ez az állat az, amely választ fog adni a kísérletekben feltett kérdéseinkre és a válaszokat rendszerint mindhárom faktor befolyásolja: a genotípus, a környezet és a kondíció is.

Ilyen tehát a kísérleti állat. Tisztítani kell, mint a vegyszereket és kalibrálni kell, mint a műszereket. És mindezt nemcsak meg kell csinálni, hanem állandóan fenn is kell tartani. A tisztítás ebben az értelemben azt jelenti, hogy minden idegen, fertőző anyagot eltávolítunk, amely bármely úton hatással lehet az állat kísérleti értékére: ilyenek a betegségek vagy a fertőzések, amelyek betegséghez vezethetnek, a külső és belső élősködők, a táplálkozásból vagy a nem megfelelő tartásból származó hibák vagy hiányok. A kalibrá-



2. ábra

ció azt jelenti, hogy olyan állatot kell választanunk a kísérletre, amely képes választ adni a feltett kérdésre. Nem lehet hőmérsékletet mérőszalaggal mérni, sem a forró víz hőmérsékletét nem lehet klinikai hőmérővel mérni. És végül nem várható megfelelő minőségű, ragyogó egészségi állapotú állat az olyan állatházból, amely nem-higiénikus, amely rosszul van tervezve, vagy ahol nem megfelelő a táplálkozás vagy hozzánemértő a napi gondozás.

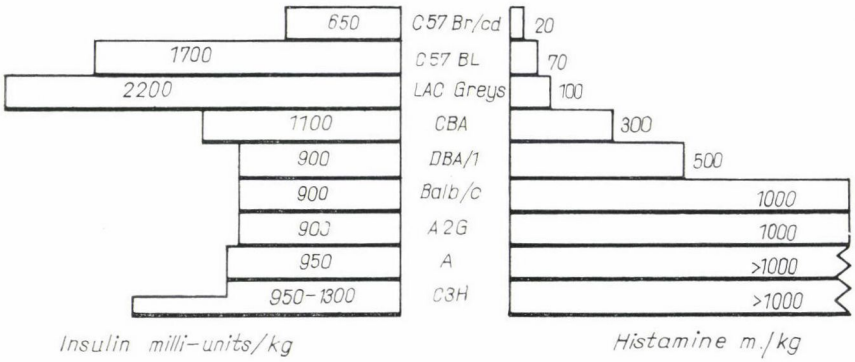
Szabadjon négy fő pontban rögzítenem a laboratóriumi állatok minőségét meghatározó tényezőket:

(a) *Genetika*

Számos példa van már arra, hogy milyen mértékben különbözik egymástól az egyes állatfajok biológiai válaszreakciója. De hasonló súlyos különbségek lehetnek a fajon belül az egyes törzsek között is. Ezt a jelenséget a legjobban az egéren ismerjük, mert valamennyi gerinces állatfaj közül egérből van a legtöbb beltenyésztett és genetikailag tiszta törzs. A különböző egértörzsek hisztaminérzékenysége mintegy 50-szeresen eltérő; az inzulinra nézve az eltérés mértéke 3-szoros; és hasonló variáció mutatható ki más biológiai válaszreakciókban is [6] (3. ábra).

Jelentős különbség nyilvánul meg patkányokban, tengerimalacokban, nyulakban, hörcsögökben és valószínűleg más laboratóriumi állatokban is az egyes biológiai válaszreakciók tekintetében. Egyes patkányok anafilaxiásak a dextrán injekcióra [7], míg mások nem. Néhány egértörzs —, mint pél-

dául a DBA — érzékeny az audiogén hatásokra, míg mások nagyon ellenállóak. Számos törzsben spontán tumorok lépnek fel, míg más törzsekben nem. A felsorolást sokszorosára lehetne növelni, azonban itt olyanokhoz szólok, akik mindezeket a tényeket ismerik. Egyetlen pontot kívánok csak megvilágítani, azt, hogy a kísérleti állatnak magának alapvető, vagy éppen döntő hatása van a kialakítható drámatípusra; éppen ezért kell lépéseket tenniök a megfelelő genotípus biztosítására. Az egérben ez többnyire, ha nem is mindig, beltenyésztett törzsek, vagy két beltenyésztett törzs közötti keresztezés F_1 hibrid generációjának használatát jelenti. Azonban akár beltenyésztett a törzs, akár nem, mindent meg kell tenni, hogy ez a genetikai állandóság meg



3. ábra

is maradjon úgy, hogy a genetikailag rögzített tulajdonságok ne csökkenjenek a divergencia, a genetikai sodrás, vagy esetleges kültenyésztés által.

A beltenyésztett törzs definíciója a következő:

„Egy törzset akkor lehet beltenyésztettnek nevezni, ha azt 20, vagy annál több egymásutáni nemzedéken keresztül édestestvér párosztatással szaporították. Az édestestvér párosztatást helyettesíteni lehet szülő x utód párosztatással, feltételezve, hogy az egymásutáni szülő x utód párosztatás során a párosztatás minden esetben a fiatalabb szülővel történik (8)."

Egy neves genetikus, Hans Grüneberg professzor, egyszer azt közölte velem, hogy ő elfogadja a beltenyésztett törzsekre vonatkozó meghatározást, de hozzátenné a következő szavakat: „. . . olyan valaki által — legyenek előállítva —, akiben neki bizalma van". Valóban az ellenőrzés kulcsa — a megbízhatóság, amely hozzáértésen alapszik. Amíg az állatok nem olyan forrásból származnak, amelyben meg lehet bízni, addig soha sem lehetünk biztosak abban, hogy az állatok valóban azok, aminek tűnnek, vagy aminek elnevezték őket. Ha egy vegyszert vásárlunk, feltételezzük, hogy az üveg tartalma megfelel annak, ami a cimkén áll — de csak akkor, ha megbízunk az előállítójában. Bizalmunkat rendszerint nem pazaroljuk méltatlanra. (Az lenne jó, ha

ugyanígy lenne a palackozott borok esetében is.) Nagyon fontos, hogy laboratóriumi állataink is mindig hűek legyenek a nevükhöz.

Az egerek beltenyésztése némi technikai gyakorlatot is kíván, pontos feljegyzéseket kell vezetni és egyetlen egy rossz pároztatás rombadöntheti a teljes törzset és évek munkáját teheti tönkre. Az olyan állományban, amely nincs szakszerűen vezetve, a párhuzamos vonalak túlzott fennállása esetén alvonalak képződhetnek, divergencia fordulhat elő, amely ugyanannak a folyamatnak a kezdete, genetikai sodródás, valamint a hasznos tulajdonságok (mint például a leukémia gyakorisága) véletlen elvesztése következhet be. Mindezek genetikai veszélyek, de vannak mások is, amelyek elsődlegesen szintén a gyakorlott gondozáson és ellátáson múlnak. Hogyan lehet a gyakorlatban a magas szintet az állatok nagy számával összeegyeztetni, hiszen ennek ellenőrzése egyáltalán nem gyakorlatias és nem gazdaságos eljárás?

A válasz egyszerű. A legmagasabb ellenőrzést az elsődleges típusú állományban kell gyakorolni, ahol az állatok száma kicsiny és a gazdaságosságnak alig van jelentősége. Ennek az állománynak a feladata, hogy tenyészállatokkal lássa el a szaporító egységeket másutt, ahol az állatokat nagy számban néhány, de legfeljebb három nemzedéken keresztül szaporítják. Tulajdonképpen minden ellenőrzést az elsődleges típusú tenyészetben kell gyakorolni. A szaporító egységek hitelessége az elsődleges típusú állománytól, valamint a szaporító egységben végrehajtott egyszerű technikai előírások betartásától függ. Angliában bizonyos fokig kifejlesztettünk egy rendszert, ahol a szubkultiváció nem igényel speciális szakképzettséget, csak józan gondozásra való készséget. A mi elsődleges típusú állományunk fehér táblával szállít törzsállatokat más tenyészetekbe, amelyek az állatokat maximálisan három nemzedéken át tenyésztik tovább. Ezeket zöld, sárga, majd piros színnel jelölik meg. Olyan egeret, amely piros jelzésű edényből származik, nem szabad továbbtenyésztésre használni.

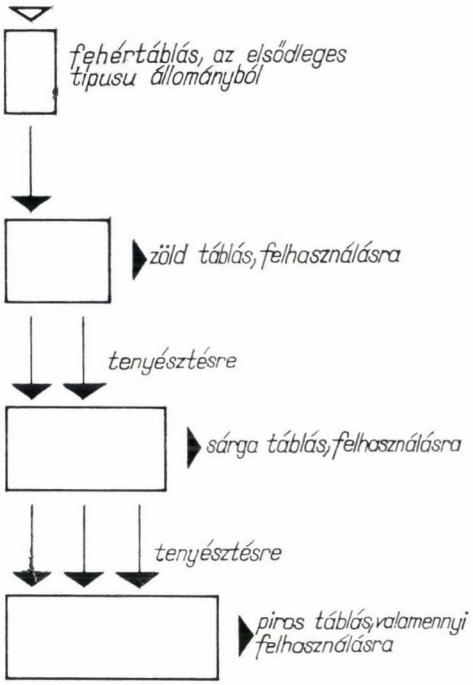
Mindaddig, amíg a nemzedékeken belül nem történik valami csere, a tenyészet szinte sohasem lehet hibás. A színkulcs biztosítja, hogy ne következhessen be végzetes tévedés. Sem feljegyzésekre, sem szelekcióra, sem pedig édestestvér pároztatásra nincs szükség — éppúgy, mint a nyílt-tenyésztésben (9).

(b) *Egészség*

A közönséges laboratóriumi állat gazdag tára a fertőzéseknek. Ezek közül néhány időszakosan vagy rendszeresen betegségben nyilvánul meg, míg mások rejtve maradnak, hacsak nem provokáljuk specifikusan. Nyilvánvaló, hogy az állatokat meg kell szabadítani a betegségek minden lehető okától, a patogének és a potencionális patogének eltávolítása által.

A múltban a fertőzéseket különböző utakon kísérelték meg kiküszöbölni: nem-fertőzött egyedek szelekciója és izolált továbbtenyésztése útján,

kemoterápiás úton, vakcinázás útján, a környezet minőségének javítása útján és számos más módon. Az ilyen módszerek kielégítőek voltak bizonyos fertőzésekkel szemben, főként azokkal szemben, amelyeket baktériumok okoztak, de csekély vagy semmi hatásuk sem volt a vírusfertőzésekkel, valamint néhány parazitás fertőzéssel szemben. Az is szükséges, hogy a fertőzést minden állatból egyszerre távolítsuk el, mialatt biztosítjuk az újrafertőződés kizárásának feltételeit is.



4. ábra

A kemoterápia — legalábbis az endo- és ektoparazitákkal szemben — ritkán vagy sohasem teljesen hatásos és egyetlen hiba elegendő ahhoz, hogy a fertőzés visszaálljon. A szelekció sokkal hatásosabb lehet, azonban fáradságos és hosszadalmas eljárás, függ a megbízható diagnosztikai eljárástól és végül feltételezi, hogy a fertőzés ne legyen 100%-os az állományban. A laboratóriumi állatok vakcinázása valószínűleg az utolsó kétségbeesett próbálkozás. Hasznos lehet egy kegyetlen járvány megállítása során, de a fertőzés megszüntetésére gyakorolt értéke kétséges. A tökéletesített állattartás és a higiéne éppúgy hozzájárul a betegség fellépésének megakadályozásához, mint bármelyik a felsorolt eljárások közül, és mindezek az eljárások bizonyára elég magasrendűek lehetnek ahhoz, hogy egy tiszta állományban megelőzzék a kívülről jövő fertőzések bejutását. Azonban mindezen módszerekkel csak részleges az eredmény. Az egerek szopóskori hasmenése, az egérhimlő, a bél-

férgesség, az atkásság; a patkányok idült légzőszervi megbetegedése; a nyulak kokcidiózisa és légzőszervi betegségei; esetleg a tengerimalacok szalmonellózisa is megmarad, ha az előbbi eljárásokat végigpróbáljuk.

Szerencsére a csíramentes állatokon folytatott tanulmányokból új technikát lehetett kölcsönözni, amely megváltoztatta az egész képet. Ha egy teljeskorú magzatot aszeptikusan távolítunk el az anyából és szigorúan aszeptikus környezetben tartjuk tovább, olyan állathoz jutunk, amely nincs egyéb mikroorganizmussal fertőzve, mint azzal, amely a méhen belüli élet során jut át a placenta barrierén. E mikroorganizmusok az egérben, patkányban, tengerimalacban és nyúlban nem lehetnek nagyobbak, mint a vírus és közülük is csak igen kevés tud átjutni ezen a barrieren. Így tehát kezünkben van az a módszer, amellyel egycsapásra kizártuk a maradék fertőzéseket, akár kórokozó az, akár nem. Az ilyen monobiotikus, csíramentes, vagy axénikus állat — nevezzük bárhogyan — csupán aszeptikus körülmények között életképes, olyanban, mint amilyen maga a csíramentes izolátor. Ha az ilyen állatokat kitesszük akár a legtisztább laboratórium levegőjére, számos baktériumot és vírust vesznek fel, amelytől vagy tönkremennek, vagy nem. Ha túlélnek — és a patkány és az egér rendszerint túlél — gyorsan kialakul mikroflórájuk egyensúlya. Ha ez a flóra nem tartalmaz kórokozót, akkor az állat életképes és betegségektől mentes, s így marad mindaddig, míg más forrásból származó kórokozó meg nem fertőzi. Más szóval eljutunk éppen oda, amire minden kísérletező vágyva vágyik.

Ilyen egerek és patkányok nyerése ma már mindennapos gyakorlat, technikailag nem túl nehéz és meglepő, hogy gazdaságos is. Bizony ma már senki sem engedheti meg magának, hogy egeret és patkányt — s a közeljövőben egyéb állatokat is — másként tenyésszen, mert az a kutató, aki egyszer megismerte az SPF állatok használatának előnyét, soha többé nem mond le róla. Valóban az SPF állat — amelyet nem lehet pontosan meghatározni, hogy mi — olyan optimális egészségi állapotban levő állat, amelyet mindig szeretnénk használni. Az SPF kifejezés nem fejezi ki a lényeget; sokkal inkább egy múló értékű megszokott elnevezés. Három feltételt foglal magában: császármetszés útján nyert aszeptikus világrajövetelt és mesterséges neveléssel vagy SPF dajka-anyán történő felnevelést; olyan korlátok között való tartást, amely minden gyakorlatilag lehetséges módon korlátozza a kórokozóknak az állományba való véletlen bejutását; és szakszerű gondozást, amely nélkül az állatok nem fognak tenyészni és a barrier biztosan tönkremegy (5. ábra).

Mi Carshaltonban építettünk egy ilyen barriert, amelyben egy elsődleges típusú állományt fejlesztünk ki, számos egér- és néhány patkánytörzsből. Azt tervezzük, hogy innen ellátjuk a különböző laboratóriumokat, valamint tenyészegységeket tenyészmaggal (fehértáblás törzsállomány), genetikailag megbízható SPF állatokkal, továbbtenyésztés, szubkultiváció céljára. Ha ezeken a helyeken a továbbtenyésztést az előbb jelzett egyszerű szabályok-

nak megfelelően folytatják és a higiénikus feltételek viszonylag jók, akkor minden rendben lesz.

SPF { császármetszés
barrier
szakszerű kezelés

5. ábra

(c) *Állattartás*

Állattartás alatt értünk mindent, ami az állatállomány környezetébe tartozik, beleértve a napi gondozást, a takarmányozást, a higiénét és a gazdálkodást is. Nem részletezhetem ezt az óriási anyagot, amelyről egyébként az ICLA 1965-re 10 napos szimpoziumot tervez. Így az állattartásnak csak azokat a fő szempontjait érintem, amelyek a laboratóriumi állat-specialisták figyelmére leginkább igényt tartanak.

Itt van az épület, az állatszobákkal, a folyósókkal és a kiszolgáló területtel, a raktárakkal, a mosodával, az irodával stb. Az anyagok bejutása normálisan sterilizálón keresztül történik. Szigorúan ellenőrizni kell a személyek tisztasági gyakorlatát is. Éppígy az állatok, a szennyezett alom és szemét kijutását is. A nemkívánatos vendégek — mint a rovarok és férgek, nemkevésbé a látogató tudósok, — továbbá a fertőzött por bejutását lehetetlenné kell tenni. Egy közönséges épület felhúzása szokás szerint úgy történik, hogy elkészítenek egy falat, amelyben számtalan nyílást hagynak, majd ezeket a nyílásokat kitöltik ablakokkal, ajtókkal, cementtel, vakolattal és festékkel. Egy korszerű állatház építése során a legjobb, ha egy dobozt vagy tartályt gondolunk el, illetve szerkesztünk, amelynek fala teljesen folyamatos. Csak ezután ütünk rajta oly kevés nyílást, amilyen keveset csak lehet s mindegyiket egy-egy sajátos céllal, ezen a módon sokkal kevesebb rés lesz a falon, mint a hagyományos módszerrel; a gondolatot azonban nem könnyű keresztülvinni az építészeknél.

Az állatszobák berendezésének teljesen, vagy csaknem teljesen meg kell felelniök az állatok igényeinek. A laboratóriumi rágcsálók nagyon alkalmazkodó állatok, nagyon szerény körülmények között is megélnek. Azonban csak akkor lesznek jó kísérleti állatok, ha a közvetlen környezet, amelyben élnek közel, ha ugyan nem teljesen optimális. Ezt a kérdést részletesen tárgyaltam másutt [10] és itt csak azt kívánom kiemelni, hogy a laboratóriumi állat az egész életét a ketrecen belül tölti, amelyet egy szobában tartunk, és hogy az az állapot, ami a ketrecben vagy a ketrecen belül a fészekben van, — a mikrokörnyezet — jelentősen különbözhet a szobáétól, — a makrokörnyezettől. Az állat számára a mikrokörnyezet a lényeges.

A takarmány és az alom sterilizálása nem nehezen megoldható feladat. A nem-beltenyésztett patkány- és egértörzsek számára az autoklávozott ha-

gyományos takarmány is megfelelő, a táplálék szupplementálása nélkül. Nem így a legtöbb beltenyésztett egértörzsre és valószínűleg néhány nem-beltenyésztett törzsre vonatkozóan. Szükség van tehát olyan egér- és patkánytápra, vagy inkább egy egér- és egy patkánytápra, amely sterilizálható és komplett valamennyi törzs számára. Ez a kérdés — amennyire én tudom — ma sehol a világon nincs megoldva.

Alom és az állatházba érkező minden egyéb anyag is sterilizálandó. Az autoklávozás hatásos módszer e célra, feltéve, hogy az autokláv megfelelő típusú és át tud hatolni a csomós, darabos anyagokon is. Ez rendszerint nagy vákuumot, továbbá a hőmérsékletnek és a behatás időtartamának teljes és megbízható ellenőrzését teszi szükségessé. Érdekes adatokhoz jutottunk az etilénoxid használatáról, amely megfelelő gépben igen áthatolóképesnek látszik és képesnek arra, hogy elölje a csírákat. Hatásossága a megfelelő hőmérséklettől, a nedvességtől és más tényezőktől is függ. Az etilénoxid azonban úgy látszik hasznos lesz az állatházak jövőjében. A harmadik sterilizálási eljárás a gammasugárzás, amely igen hatásos, ha elegendő nagy dózisban — 2—3 megarad-ban — használják. Jelenleg azonban csaknem megfizethetetlenül drága.

Eleget beszéltünk arról, hogy a korszerű állatházban szakképzett munkaerők szükségesek. A laboratóriumi állatgondozás új technológia, amely a személyi minőségtől és sok más tényezőtől függ: az alkalmasságtól, az odaadástól, az intelligenciától, a gyakorlottságtól és a tapasztalattól. Ki kell küszöbölni vagy gépesíteni kell az öreg állatházak lealázó munkáját és derék munkatársakat kell magunknak toborozni és megnyerni; a fizetésnek pedig vissza kell tükröznie azt az új magasztosságot, amely szorosan hozzátartozik ehhez a nagyon fontos munkához.

(d) *Sajátos biológiai válaszok*

Alapvetően szükséges, hogy minden vizsgálathoz a helyénvaló műszert, vagy a megfelelő vegyszert használjuk. Már említettem néhány példát arról a nagy különbségről, amely a fajok között, sőt ugyanazon faj különböző törzsei között fennállhat. Ezek a megfigyelések csak szórványosak, és szinte csak véletlenül kerültek a napvilágra. A legtöbb ilyen adatot természetesen a beltenyésztett egértörzseken ismerjük. Ezek egy része jellegzetes tulajdonságokkal rendelkezik, például olyanokkal, amelyek a daganatkutatók munkájára járnak különösen kiemelkedő előnyökkel. A beltenyésztés során az egérben sokféle állapot és abnormalitás is megnyilvánult, mint mutáció, olyan, amely hasonló, vagy analóg az ember kóros állapotával. De számos olyan jelentős állapot is van az emberben, mint például a vékonybélfekélyek, a nátha, a koszorúér-elmeszesedés, a tüdődaganat, hogy csak néhányat említsek, amelynek nincs megfelelője a laboratóriumi állatban és így ezeket a kér-

déseket az állatokon nem lehet gyümölcsözően tanulmányozni. De vajon túl távol van-e a lehetőség arra, hogy tudatosan fejlesszünk ki állattörzset valamilyen speciális vizsgálatra?

A laboratóriumi állat-specialista tehát meglehetősen nagy választékot kínálhat fel, hogy kielégítse a kutatókat. Ma már erőteljesen megindult az elérhető egértörzsek, valamint más fajok speciális jellemzőinek és biológiai válaszainak összegyűjtése, katalogizálása, bár ma még sokkal kevesebbet lehet megtalálni erről a kérdésről, mint amennyi a gyakorlatban elegendő lenne. Közben új tudományágak is alakultak ki, így a farmakogenetika, amely a gyógyszerek hatásának genetikai hátterével foglalkozik, az immunogenetika, amely az immunológiai válaszok befolyásával foglalkozik. Jelenleg egyik munkatársam — Dr. ANNIE BROWN — és másutt mások a különböző egértörzsek viselkedésbeli különbségeit kezdik megfigyelni és egy napon valaki egy új szót talált ki erre a tanulmányra — etogenetika. Mint már mondottam, azok a különbségek, amelyek a fajon belül a különböző törzsek között fennállnak, gyakran genetikailag determináltak. Némely patkány dextránra adott anafilaxiás válasza egyetlen recesszív génhez van kötve. Az egér — éppúgy, mint az ember és más állatok — számos patológiás mutánsa monogenetikus eredetű [11]. Számos beltenyésztett egértörzs rendkívül sajátságos tulajdonságokkal rendelkezik, mint amilyen a spontán tumorképződés vagy speciális érzékenység, és ezek a jellemvonások gyakran csak egyetlen vagy néhány génhez vannak kötve. Azonban a beltenyésztett törzsek hasznossága vagy azoké a törzseké, amelyek bizonyos mutációkat tartalmaznak nem mindig ebben, vagyis a magasan specifikus válaszokban kereshető. Sőt ellenkezőleg, hasznosságuk éppen egy nagyonis nem-specifikus terület lehet, csupán arra a tényre mutatva, hogy a beltenyésztett törzsekben — a nem-beltenyésztett törzsekhez viszonyítva — általában hiányzik az életrevalóság. A beltenyésztett törzseknek a nem-specifikus vizsgálatokban való hasznosságáról nem régen beszámoltunk [12]. Ezekben a vizsgálatokban néhány egér-diéta értékére voltunk kíváncsiak, olyanokéra, amelyeket a szerzők és a gyártók teljes értékűnek mondtak. Egy takarmányozási kísérletben, amelyben nem-beltenyésztett egereket használtunk, két éves időtartam alatt és 6 nemzedéken át, rangsorba tudtuk állítani az 5 diétát úgy, hogy a diéták közötti különbség statisztikusan szignifikáns volt. Amikor megismételtük a vizsgálatot CBA egéren, ugyanazt a rangsort találtuk, azonban mindezt egyetlen nemzedéken és csupán 110 nap alatt értük el; a különbségek mégis minden tekintetben még kifejezettebbek voltak. Megismételtük a kísérletet más beltenyésztett törzseken is, de egyetlen törzset sem találtunk olyan hasznosnak, mint a CBA-t. Ebből két következtetést lehet levonni. Először, hogy egy szélsőségesen nem-specifikus kérdést, mint amilyen a diéta minősége, a legjobban CBA egéren lehet vizsgálni. Másodszor, hogy a diéta tulajdonságát szokatlanul rövid idő, 110 nap alatt lehet megítélni, vagyis 5 vemhesülési időszak plusz egyetlen

ösztrusz ciklus ideje alatt. Ebből azt lehet megjegyezni, hogy a táplálkozási kísérletekhez a CBA egér a legmegfelelőbb, míg más törzsek esetleg más célra szolgálhatnak a legjobban.

Következtetés

Ezek után helyes lesz kiegészíteni azt a kérdést, amelyet a kezdetben tettünk fel — miért használunk laboratóriumi állatot? — egy második kérdéssel: Milyen minőségű laboratóriumi állatot kell használnunk egy bizonyos kísérletre? Ma még meglehetősen zavart a választék azok előtt a kutatók előtt, akik nincsenek annyira tisztában a helyzettel, mint amennyire lehetnének. Ha én elmegyek a szabóhoz, hogy csináltassak egy ruhát, akkor megmondom, hogy azt milyen célra akarom, majd megegyezünk a készítendő ruha részleteiben. Hasonlóképpen, ha a kutató megkérdezi a laboratóriumi állat-specialistát, hogy milyen állatot használjon a kutatásra, a specialistának képesnek kell lennie arra, hogy megértse a problémát és jó tanácsot adjon. Nekünk ismernünk kell az állatainkat és nem elegendő, hogy csak azt tudjuk, hogyan kell tenyészteni és tartani azokat: azt is kell tudnunk, hogy melyiket tudjuk eredményesen felhasználni.

A kutató manapság káprázató lehetőségek előtt áll és nem hibáztathatjuk, ha nem használja ki a lehetőségeket annyira, amennyire csak lehetséges. De mi, akik magunkat laboratóriumi állatszakembernek szeretnénk tartani, mi is hibásak vagyunk, ha a kutató rossz állatot használ a munkájához, vagy a megfelelő állatot rosszul használja, mivel elmulasztottuk megfelelően felvilágosítani. Vannak csíramentes állatok, amelyek nélkülözhetetlenek bizonyos korlátozott kutatási területeken. Vannak úgynevezett SPF állatok, amelyek után évekig kutattunk, vannak speciális beltenyésztett vagy nem-beltenyésztett törzsek, sajátságos előnyökkel. És ma már egyre szélesebb skálája áll a rendelkezésünkre a különböző egyéb állatfajoknak, amelyeknek szélesbedik a felhasználása. És természetesen vannak olyan állatok, amelyeket még mindig megtűrünk: — egereket ektroméliával, szalmonellózissal, szopóskori hasmenéssel, parazitákkal, ismeretlen genetikai háttérrel és bizonytalan élettartammal; patkányokat idült légzőszervi betegségekkel és előrehaladott bronchiektáziával, leptospirózissal és farokgyűrűsödéssel; tengerimalacokat skorbuttal, pasztörellózissal, szalmonellózissal és nyaki nyirokcsomógyulladással; nyulakat kokcidiózissal, nyálkás bélgyulladással, fül-daganatokkal — ez a kép megdöbbentő és mondjuk ki, szégyene a biológiai tudományoknak. Ma már nem kell megtűrnünk azt, amit a múltban kénytelenek voltunk elviselni. Ebben az értelemben a statisztikusok nagyon rosszat tettek velünk, amikor megtanítottak arra, hogy hogyan értékelhetjük ki az olyan kísérletek eredményeit, amelyeket rossz állatokon végeztünk, vagy amelyek a kísérlet vége előtt interkurrens betegségben elpusztultak. Arra ösztö-

kéltek minket, hogy nagyszámú állatból álló csoportokat használjunk, hogy elegendő megfigyelésszámhoz jussunk és protestálás nélkül elfogadtuk, hogy az állataink olyanok amilyenek. Meg vagyok győződve arról, hogy ha a statisztikusok nem segítettek volna minket olyan hatásosan, nem kellett volna annyi ideig várni arra, hogy megjavítsuk állataink minőségét.

Azzal kívánom befejezni ezt a gondolatsort, hogy a kutatónak azon a két kérdésen felül, amelyet már feltett magának, fel kell tennie egy harmadikat is. Az első az volt — miért használunk állatot? A második — milyen állatot használjunk? És a harmadik — mennyi az a legkevesebb állat, amennyi valamilyen kísérlethez szükséges?

IRODALOM

1. Barnes, J. M.: Toxic Hazards from Drugs. — J. Pharm. Pharmacol., XV suppl. 75—91 (1963).
2. Frank, O., Baker, H., Ziffer, H., Aaronson, S., Hutner, S. H. et Lavy, C. M.: Metabolic Deficiencies in Protozoa Induced by Thalidomide. — Science, **139,** 110—11 (1963).
3. Way, H.: Differential Respenses of Paramecium Aurelia to Cigarette Components, — Nature, Lond., **197,** 946—948 (1963).
4. Coates, Marie E.: The Use of the Chick in Studies of Nutrition. — LAC Collected Papers, **12,** 41—45 (1963).
5. Goodwin, L. G.: Introductory Remarks: The Choice of the Experimental Animal. — LAC Collected Papers, **12,** 5—6 (1963).
6. Brown, Annie M.: Strain Variation in Mice. — J. Pharm. Pharmacol., XIV, 406—410 (1962).
   Brown, Annie M.: Mouse Strain Difference in Response to Antihistamine Drugs. — J. Pharm.Pharmacol., XV, 344—345 (1963).
7. Harris, J. M. et West, G. B.: Anaphylactoid Reaction in Rats. — Nature, Lond., **191,** 399 (1961).

Harris, J. M., Kalmus, H. et West, G. B.: Genetical Control of the Anaphylactoid Reaction in Rats. — Genet. Res. (Camb.), **4,** 346—355 (1963).

8. Snell, G. D., Staats, Joan, Lyon, M. F., Dunn, L. C., Grüneberg, H., Hertwig, P. et Heston, W. E.: Standardized Nomenclature for Inbred Strains of Mice. Second Listing. — Cancer Research, **20,** 145—169 (1960).
9. Lane-Petter, W.: Provision of Laboratory Animals for Research. A Practical Guide. Elsevier, Amsterdam, London, New York. (1961).
10. Lane-Petter, W.: The Physical Environment of Rats and Mice. IN Animals for Research. Principles of Breeding and Management. Ed. W. Lane-Petter, Academic Press, London et New York. (1963).
11. Grüneberg, H.: An Annotated Catalogue of the Mutant Genes of the House Mouse. — Medical Research Council Memorandum No. 33. H. M. Stationery Office. (1956).
12. Porter, G., Lane-Petter, W. et Horne, Nancy Assessment of Diets for Mice. — Zschr. Versuchstierk. **2,** 75—91 and 171—182 (1963).

ERNST JENŐ PROFESSZOR 70 ÉVES

Venimus ad fortissimum. A 70-ik születésnapját ünneplő Ernst Jenő élete, munkássága, kimunkált tudományos pályája alkalmas arra, hogy ne csak tanítványai, munkatársai és tisztelői köszöntsék és ünnepeljék, de — mert a példák vonzanak — mintaképül állítsuk a fiatal kutatógárda elé. Született 1895. ápr. 16-án. A budapesti Tudományegyetemen avatják orvos-doktorrá. Ezután a pécsi egyetem gyógyszertani, majd orvos-fizikai intézetében dolgozik. 1938-ban egyik napról a másikra el kellett hagynia az orvos-fizikai intézetet, és a kémiai intézetben kap munkalehetőséget. Később Szent-györgyi Albert ajánlja fel szegedi intézetét munkahelyül és asylumként. Nem emelkedett szédítő magasba, de félszázad eredményeként összhangot teremtett belső és külső életében, a társadalmi tájékozódásban és elhelyezkedésben. Szívében, lelkében lelkesedés és elégültség, szellemében nyugtalanság, következetesség és szilárdság lakik. Vidám kutató és tanító akart lenni és íme vidám tudós és tanító — egy tudományos iskola feje — ma is, az öregség küszöbén. Egy irigyelt és harmonikus élet. A bátor, vakmerő és álhatatos viselkedést az elért nagyszerű tudományos eredmények harmóniájában jutalmazta népi államunk és társadalmunk külső jelekkel is: kétszer kapott Kossuth-díjat, és kétszer kapott Munka Érdemrendet. 19 éve egyetemi tanár és akadémikus.

Az életben sokszor voltam Ernst Jenővel együtt. Ismertem őt alapos, tépelődő, sikeres kutatásai közben és a kedves, lélekderítő magánélet meleg óráiban. Shakespeare Antoniusának szavaival mondhatom én is: „Barátom . . . ő hozzám hű és igaz". De, mert ilyen, az ünneplés óráiban nem írhatok róla a barát elfogultságával, hanem a kortárs, a pályatárs és munkatárs köteles méltánylásával és eredményeinek tárgyilagos mérlegelésével kell szólanom róla.

Szakirodalmi ismereteivel nem elégszik meg, új és új területeket kapcsol össze kitűnő invencióval. Önmaga fogalmazásában: „az élet problematikája nem világosodhat meg a funkciók mechanizmusának ismerete nélkül, vagyis biofizika nélkül nincs élettudomány." Ennek az új tudománynak első művelői közé tartozik. Ezért érthető a tudományos harc körülötte és eredményei körül: új tudományág nehéz vajúdások közepette születik. Új meglátások, új

elméletek, új eredmények jönnek létre a biofizikai felismerésekből. Így legutóbbi évek során igen termékeny volt az izom- és idegszövetben félvezető struktúrák létezésére rámutató nézete. Azóta intézetében több olyan kísérleti adat született, mely ezt a felfogást támogatja.

Ragyogó invenció következménye az a meglátása is, hogy az izom félvezető tulajdonsága és a sugárhatás között kapcsolat van, melyet szintén támogatnak kísérletes eredmények.

Egy életen át rendületlenül kitart egy probléma — az izom működésének vizsgálata — mellett. Kutatási területét szélesíti és mélyíti oly mértékben, hogy egyes kérdések vizsgálatát mind több és több kutató végezhesse.

Nagyszerű eredményekre vezetett a harántcsikolt izom struktúrájának vizsgálata, mely eredmények az izom működésének magyarázatában is hasznosíthatók voltak.

Izommechanikai vizsgálatai rendkívül sokrétűek s még igen sok vizsgálati, ma még megmagyarázásra váró tényt találunk bennük. Az izom térfogatmérési metodikával mért eredményeit a submikroszkópos adatokkal összevetve azt feltételezte, hogy a mechanikus feszülés hatására az izomfehérjék kristályosodása következik be. Ezzel a feltevéssel az izom mechanikai jelenségei jól magyarázhatóvá váltak. Ezt a kristályosodási felfogást egyéb kísérletes adatok is támogatják, és ennek alkalmazása a sport- és munkafiziológiában eredményesnek ígérkezik.

Az izom mechano-kémiai kapcsolatának kérdése is sok eredményt hozott a nyugvó és ingerelt izom rugalmasságával kapcsolatosan. Az energiavizsgálatok felvetik a kérdést, vajon a rövidült izom nyújtására használt energia nem hozható-e kapcsolatba az izomhypertrofia létrejöttével? Ha igen, akkor az izom olyan gépnek felelne meg, mely teljesítőképességét automatikusan tudja növelni.

A biológiai folyadékmobilizáció és a koncentrációs munka vizsgálata során kimutatták a thermodiffúzió és thermoozmózis jelenségét biológiai objektumokon is. Az általuk felfedezett „kapilláris thermodiffúziónak" a veseműködésben tulajdonítanak jelentőséget.

Sorolhatnám még tovább és hosszan Ernstnek és tanítványainak vizsgálatait és eredményeit. De ezek egybegyűjtve megtalálhatók abban a nagyszerű monográfiában, melyet Ernst írt s Akadémiánk kiadásában 1958-ban jelent meg „Die Muskeltätigkeit" címmel közel 400 oldalon. Ez a munka igazolja, hogy Ernstnek sikerült a legtöbb és legnagyobb, melyet kutató elérhet: tudományos iskolát alakított ki, melynek tagjai eredményesen folytatják a mester által megkezdett kutatási terület további kísérleti és elméleti vizsgálatát. A tudományos iskola kialakításához minden adottsága megvan. A természetvizsgáló lelki alkatát általában kétféle kategóriába osztják: analytikus, vagy szintetikus elme címén. Ernst esetében ez a tagolás nem válik be. Ragyogó, klasszikus és modern metodikákkal vizsgál egy-egy tudományos kér-

dést, de amikor a szakirodalom elegendő kísérletes adat birtokában van egy-egy széles terület felmérésében, akkor igen lelkiismeretesen, invenciózusan, kitűnő logikával összegez. Így születnek hypotézisei és elméletei. Elgondolásait védi. Harcos egyéniség. Legnagyobb ellenfelei Hill és Meyerhof. A viták rendszerint Ernst igazával nyernek lezárást. Nem könnyű, nem kényelmes ellenfél. Kemény gerincű ember. Nem opportunista, nem hajlik, inkább törik. De sohasem helytelen állítás elvakult védelmében, mindig a maga nézete igazában való meggyőződés tudatában. Az Ernst alkatú ember képes jó tudományos iskola kialakítására, akire ráillik: hibái tulajdonképp ki nem nőtt erények.

Ernst jellemére valóban a reflektor fényerejével világít A. V. Hillel való kapcsolata. Hill 1930-as évek végén meleg levélben hívta: jöjjön hozzá, professzori címmel dolgozhat intézetében. (Európa fölött sötét, embertelen felhők tornyosultak.) Ernst azt válaszolta, csak akkor fogadhatja el a humánus ajánlatot, ha Hill vele együtt lefolytatja azt a kísérletet, mely eldönti a közöttük lezajlott vitás kérdést. Inkább kockára tette életét, mintsem — hogy bár látszólag is — föladja tudományos meggyőződését.

Pártjához, a néphez ugyanúgy hűséges, mint a tudományhoz. „Hadifogoly társaival" — a kommunistákkal — 40 éve tart fenn meleg, őszinte, fegyelmezett kapcsolatot.

Vizsgálatainak eredményeit mind nagyobb, érdeklődő tábor lesi. A biofizikusok száma nő hazánkban is. De nemcsak itthon tekinti Őt a biofizikusok vezetőjének, hanem a nemzetközi tudományos életben is. A biofizika nagy terjesztője az általa életre hívott és jelenleg is elnöklete alatt álló Magyar Biofizikai Társaság, melynek időközönkénti vándorgyűlései a biofizikusok vitafórumaivá váltak.

A kitűnő vitázó, nagyszerű tanár is. Így lesz teljessé a hézagosan ismertetett nagy és szép élet.

Él bennünk a jó remény: Ez a nagy és szép élet lángol, fénylik és világít.

KOCZKÁS GYULA

DUDICH ENDRE PROFESSZOR 70 ÉVES

Ebben az esztendőben lesz 70 éves dr. Dudich Endre professzor, a Magyar Tudományos Akadémia rendes tagja, a budapesti Tudományegyetem Állatrendszertani Intézetének igazgatója, az Acta Zoologica Hungarica főszerkesztője. Igaz szívvel emlékeznek meg erről a napról kollégái, munkatársai, barátai és nagyszámú tanítványa.

Dudich Endre 1895-ben Nagysallón született. Apja jónevű orvos volt, aki fiatal korában az entomológia területén is tevékenykedett. Középiskolai tanulmányainak elvégzése után a budapesti Tudományegyetem Filozófiai Fakultására iratkozott be. 1922-ben tett doktori szigorlatot „sub auspiciis" eredménnyel. Tudományos pályáját a Magyar Nemzeti Múzeum Állattárában kezdte meg, és néhány év múlva a zoológia területén egyetemi magántanári képesítést nyert.

Már mint középiskolai diák, különösen pedig mint egyetemi hallgató mély vonzalmat tanusított a zoologia iránt és sarkalta a vágy az állatvilág mérhetetlen gazdagságának megismerésére. Érdeklődési köre csakhamar az alacsonyabbrendű állatokra és ezek közül különösen az ízeltlábúakra specializálódott. Mint az Állattár őrének, alkalma nyílott a gerinctelenek gyűjtéséről, konzerválásáról és meghatározásáról szóló könyvek és útmutatók terén észlelt nagy hiányosságokat megszüntetni.

Már igen korán az a törekvés vezérelte, hogy a tudományt szolgálja, tudását elmélyítse s megszerzett gazdag tapasztalatait tanítványainak és e tudomány iránt érdeklődőknek átadja. Látókörét s általános zoológiai ismereteit a jó hírű nápolyi Stazzione Zoologicán ismételt, rövidebb-hosszabb idei tartózkodása során jelentősen bővítette — s miként azt maga is hangsúlyozza — „ezek a tanulmányutak formálták őt igazi zoológussá". Mélyen gyökerező pedagógiai adottsága a későbbi évek folyamán lényének és gondolkodásmódjának irányító jellemvonásává érlelődött.

Alig 15 évi múzeumi működés után a budapesti Tudományegyetem új, 1934-ben alapított Állatrendszertani Tanszékére kapott meghívást. Jóllehet Dudich Endre tudományos tevékenysége már az addig elmúlt időszakban jelentős eredményekkel, így egyebek közt két nagy monográfiával (Die Höhl-

enfauna von Aggtelek; Polarisationsmikroskopische Studien über den Hautpanzer der Crustaceen) gazdagította a tudományt, új működési körében most már fokozottabb lehetősége nyílott a fiatal professzornak arra, hogy pedagógiai képességeit is a legmagasabb fokon kibontakoztathassa. Az új intézetet fáradhatatlan munka árán felszerelte a szükséges demonstrációs eszközökkel, rendezte a gazdag, de áttekinthetetlen állatgyűjteményt s megteremtette a korszerű tudományos kutatás legfontosabb feltételeit. Egyetemi előadásainak vaskos kéziratát már 1937-ben befejezte, mely „Állatrendszertan" és „Állatföldrajz" címen jelent meg. E tanszék alig kaphatott volna Dudich Endrénél megfelelőbb vezetőt, hisz személyisége a szónak legnemesebb értelmében a rendszertan hivatott megtestesítőjének bizonyult.

Sajnos, a mintaszerűen felszerelt intézet a háborús évek során oly nagy veszteséget szenvedett, hogy nemcsak új helyre kellett költöznie, hanem azt szinte teljesen újjá is kellett szerveznie.

Időközben az állatrendszertan új otthonában nemcsak az Intézet munkatársainak létszáma, de a kutatás iránya is jelentősen kibővült, változott. A Magyar Tudományos Akadémia Talajzoológiai Kutatócsoportját és a Magyar Dunakutató Állomást az Állatrendszertani Intézethez kapcsoltan szervezte. Ezek igen rövid idő alatt jelentős nemzetközi tekintélyre tettek szert. És végül megvalósult Dudich Endre régi vágya: a biospeológiai kutatásokat szolgáló barlangi laboratórium felállítása.

Tanítványai segítségével sikerült önálló, idegen nyelvű folyóiratot kiadnia, előbb „Fragmenta Faunistica Hungarica", majd „Opuscula Zoologica" címen, amelyekben elsősorban közvetlen munkatársainak és tanítványainak tudományos eredményeit közölte.

Az a tény, hogy az Intézet az új tanterv magas követelményeinek eleget tudott tenni és a szerteágazó kutatási munkát jól el tudta látni — és ma is ellátja — bizonyítja Dudich Endre rendkívüli rátermettségét, akinek mint tudósnak és professzornak, mint embernek és szervezőnek 3 évtized dícséri alkotó-tanító munkáját. E képességeivel nemcsak hallgatóit nyerte meg, hanem szakmája minden kollégáját is, akik őt ma a rendszertan, állatföldrajz, ökológia, cönológia és az egész zoológia területén és annak minden kérdésében szellemi vezetőjüknek tekintik.

Tudományos tevékenysége két, világosan elhatárolható periódusra osztható: kutató- (1924—1944) és szervezői munkásságra (1944-től). Számos, részben átfogó munkája főként az első periódusban született, amelyek nemcsak hazai, hanem nemzetközi szakmai körökben is meleg fogadtatásra találtak és minden vonatkozásban öregbítették a magyar zoológia hagyományosan jó hírnevét. Általánosan kedvelt, mesteri világossággal megszövegezett előadásai és demonstrációi az állatok rendszertanáról és fiziológiájáról azt bizonyítják, hogy a most születésnapját ünneplő professzor — mint nyilvátnos egyetemi tanár — mennyire szívén viselte és viseli a magyar zoológia fej

lődésének ügyét. Mély tárgyilagosságra való törekvése nemcsak „ex cathedra" nyilvánul meg. A zoológia jövendő tanárainak képzését, egyetemi oktató munkáján kívül is messzemenően szem előtt tartja.

Dudich Endre érdemei nem kisebbek a szervezés területén sem. Már múzeumi tevékenysége éveiben részletes, modern munkaprogramot készített — rendszeres és szakszerű faunakutatásra — amely biztos, szilárd kiindulási pontjául szolgált a két évtizeddel később megvalósított hazai állatvilág-kutatásunknak. Intézetében szerencsésen választotta meg munkatársait, akik a hozzá közelálló szakterületeken — acarológia, cönológia, *szabadon élő Nematodák*, *Lumbricidák* — rendkívül eredményes specialistáknak bizonyultak, és urbi et orbi emelték az Intézet tekintélyét.

A zoológia területén elért kiemelkedő munkásságát mind egyetemi professzor kollégái, mind a Magyar Tudományos Akadémia elismerte és a legmagasabb szinten is méltányolták. 1955-ben „Munka Érdemrend" kormánykitüntetést, 1957-ben Kossuth-díjat kapott. Rendes tagja a Magyar Tudományos Akadémia VIII. Osztályának, és ezen osztály Vezetőségének, az Akadémia Zoológiai Bizottságának elnöke, tb. tagja a Bécsi Zoológiai és Botanikai Társaságnak (1961 óta), és korábban szerkesztőségi vezetője volt az általa életrehívott „Fauna Hungariae" c. kiadványsorozatnak.

Munkatársai és barátai a 70-dik születésnapját ünneplő professzornak legjobb kívánságaikat tolmácsolják: ad multos annos!

KOTLÁN SÁNDOR

A kiadásért felel az Akadémiai Kiadó igazgatója Műszaki szerkesztő: Farkas Sándor
A kézirat nyomdába érkezett: 1965. IV. 15. Terjedelem: 14,25 (A/5) ív, 70 ábra

65.60658 Akadémiai Nyomda, Budapest — Felelős vezető: Bernát György

31,— Ft

TARTALOM

STRAUB F. BRUNO: MTA Biológiai Tudományok Osztálya Vezetőségének beszámolója 125

Az MTA Közgyűlése keretében megtartott osztályrendezvények, előadások

ERNST JENŐ: A biokibernetika problémáiról 149

FLERKÓ BÉLA—ÁDÁM ANDRÁS és SZÉKELY GYÖRGY: Kísérlet biológiai ciklus matematikai logikai elemzésére 151

BIRÓ GÁBOR—KIRÁLYFALVI LÁSZLÓ: Az ingerület mint kódolt információ 157

SZÉKELY GYÖRGY: Elméleti ideghálózat kétéltűek járómozgásának modellálására 161

LADIK JÁNOS: A fehérjeszintézis kódolása 165

ELŐDI PÁL: Globuláris fehérjék szerkezetfenntartó erőinek kooperatív együttműködése 173

RÖHLICH PÁL—TÖRÖK LÁSZLÓ—OLÁH IMRE: Riboszóma-helixek 179

NIEDETZKY ANTAL: A mechano-kémiai kapcsolás és az izom hypertrophiája 189

DÉNES GÉZA—FARAGÓ ANNA: Az arginin bioszintézis allosztérikus enzimjének tulajdonságai Chlamydomonas reinhardtiban 195

Tudománypolitikánk 20 éve

HORVÁTH IMRE: A biológiai tudományok helyzete és fejlődése hazánk felszabadulása óta eltelt 20 évben 203

KONTRA GYÖRGY: A biológiatanítás két évtizede 215

Önálló tanulmányok

FARKAS GÁBOR: A növénybetegségek és a növényi betegségellenállóság enzimológiai vonatkozásai (akadémiai székfoglaló előadás) 223

DONHOFFER SZILÁRD: A thermoregulációs hőtermelésről (akadémiai székfoglaló előadás) 239

M. SABOURDY: Laboratóriumi állatok előállításának modern módszere 255

W. LANE-PATTNER: A laboratóriumi állat — műszer és vegyszer 267

Akadémikusaink köszöntése

KOCZKÁS GYULA: Ernst Jenő professzor 70 éves 281

KOTLÁN SÁNDOR: Dudich Endre professzor 70 éves 285

Index: 26.496

A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA

BIOLÓGIAI TUDOMÁNYOK OSZTÁLYÁNAK

KÖZLEMÉNYEI

SZERKESZTI

STRAUB F. BRUNÓ

VIII. KÖTET 3—4. SZÁM

AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST
1966

BIOL. OSZT. KÖZL.

A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA
BIOLÓGIAI TUDOMÁNYOK OSZTÁLYÁNAK
KÖZLEMÉNYEI

A SZEERKESZTŐ BIZOTTSÁG TAGJAI

Dr. DUDICH ENDRE, Dr. GYŐRFFY BARNA, Dr. SOÓ REZSŐ,
Dr. SZENTÁGOTHAI JÁNOS, Dr. TÖRŐ IMRE, Dr. ZÓLYOMI BÁLINT

SZERKESZTI
STRAUB F. BRUNÓ

TECHNIKAI SZERKESZTŐ
DÉZSI LÁSZLÓ

SZERKESZTŐSÉG: MTA BIOLÓGIAI OSZTÁLYA BUDAPEST V., NÁDOR U. 7.

KIADÓHIVATAL: BUDAPEST V., ALKOTMÁNY UTCA 21.

A Magyar Tudományos Akadémia Biológiai Osztályának Közleményei változó terjedelmű füzetekben jelennek meg. Négy füzet alkot egy kötetet. Évenként általában egy kötet jelenik meg.

Az MTA Biológiai Osztályának Közleményei részére kéziratok a következő címre küldendők:

Budapest V., Nádor u. 7., Dézsi László technikai szerkesztő.

Minden szerzőt 100 különlenyomat és nyomtatott ívenként 400 forint tiszteletdíj illet meg megjelent munkájáért. Közlésre el nem fogadott kéziratokat a szerkesztőség lehetőleg visszajuttat a szerzőhöz, de felelősséget a beküldött kéziratok megőrzéséért vagy továbbításáért nem vállal.

A Közlemények előfizetési ára kötetenként belföldi címre 40 forint, külföldi címre 60 forint. Megrendelhető belföldre az Akadémiai Kiadónál (Budapest V., Alkotmány u. 21. Bankszámla: 05-915-111-46 sz.) külföldre a „KULTÚRA" Könyv- és Hírlap-Külkereskedelmi Vállalatnál (Budapest I., Fő utca 32. Bankszámla: 43-790-057-181 sz.) vagy annak külföldi képviseleteinél és bizományosainál.

A Magyar Tudományos Akadémia Biológiai Osztálya, valamint az V. Orvosi Tudományok Osztálya a következő idegen nyelvű folyóiratokat adja ki:

1. *Acta Biologica*,
2. *Acta Chirurgica*,
3. *Acta Medica*,
4. *Acta Microbiologica*,
5. *Acta Morphologica*,
6. *Acta Paediatrica*,
7. *Acta Physiologica*,
8. *Acta Botanica*,
9. *Acta Zoologica*

E lapok hivatottak a magyar biológiai és orvosi tudományok eredményeinek legjavával a külföldet megismertetni.

A cikkek német, angol, francia vagy orosz nyelven jelennek meg a szerző kívánsága szerint, összefoglaló pedig további két nyelven. A dolgozatot magyar vagy a megfelelő idegen nyelven a következő címre kell beküldeni:

Acta Biologica szerkesztősége, Budapest IX., Tűzoltó u. 58. (Techn. szerk. Dr. Müller Miklós)

Acta Chirurgica szerkesztősége, Dr. Rényi-Vámos Ferenc szerkesztő, Budapest VIII., Üllői út 87/b.

Acta Medica szerkesztősége, Budapest VIII., Korányi Sándor u. 2. (Dr. Stark Ervin)

Acta Microbiologica szerkesztősége, Országos Közegészségügyi Intézet, Budapest IX., Gyáli út 4. (Techn. szerk. Dr. Dömök István)

Acta Morphologica szerkesztősége, Dr. Törő Imre, Szövet- és Fejlődéstani Intézet, Budapest IX., Tűzoltó u. 58.

Acta Paediatrica szerkesztősége, Dr. Véghelyi Péter szerkesztő, Budapest VIII., Bókay János u. 53.

Acta Physiologica szerkesztősége, Dr. Straub F. Brunó, Orvos-vegytani Intézet, Budapest VIII., Puskin u. 9.

Acta Botanica szerkesztősége, Természettudományi Múzeum, Növénytár, Vajdahunyadvára. (Techn. szerk. Allodiatoris Irma)

Acta Zoologica szerkesztősége, Dr. Dudich Endre, Állatrendszertani Intézet, Budapest VIII., Puskin u. 3.

„IDŐSZERŰ GENETIKAI KÉRDÉSEK"

kollokviuma

Tihany, 1965. október 4—8.

I. RÉSZ

A GENETIKAI INFORMÁCIÓ ALAPJAI

CSÁNYI VILMOS

Budapesti Orvostudományi Egyetem Orvosi Vegytani Intézet

A genetikai információ problémái ma már könyvtárnyi irodalmat töltenek meg, akárcsak közelítőleg átfogó képet adni kialakulásáról, fejlődéséről, egy rövid cikkben lehetetlen, és ezt talán a tihanyi „hagyományok" sem követelik meg. Célszerűbb lesz egy rövid beszámolót adni ennek a területnek a legfrissebb biokémiai eredményeiről.

Bevezetésképpen röviden összefoglaljuk azokat az általános „dogmákat", amelyek alapján az újabb eredmények is értelmezést nyertek.

A sejtek élete, anyagcseréje az enzimek működésén alapszik. Az öröklődés folyamata lényegében a fehérjeszintézist irányító és szabályozó mechanizmusok reprodukcióját és ezek utódoknak történő átadását foglalja magában.

A fehérjék kevés kivétellel speciális katalizátorok, amelyek szigorúan megszabott molekulaszerkezettel bírnak. A fehérjemolekulák a természetben előforduló 20 aminosavból épülnek fel. Az egyes aminosavak meghatározott sorrendű polipeptidláncot alkotnak, amely a térben, szintén adott módon, fel van tekeredve. Az így kialakuló háromdimenziós szerkezeten nyugszik a molekula katalikus és biológiai funkciója.

A fehérjék felépítéséért, az aminosavlánc aminosavsorrendjének meghatározásáért felelős információ a sejtekben levő DNS-be van rejtve. Az információt a DNS molekula négy különböző bázisának sorrendje kódolja. A DNS bázisainak hármas csoportjai irányítanak egy-egy aminosavat a különböző fehérjemolekulák láncába. A DNS molekula, a gének hordozója két fő folyamatban vesz részt: az egyik a DNS replikációjának folyamata, amely a genetikus információ utódoknak történő átadását szolgálja, a másik pedig egy ribonukleinsav másolat, a messenger RNS szintézise. Mindkét folyamatban enzimek közreműködése mellett a bázisok közötti specifikus kapcsolódási affinitás játssza a főszerepet. A DNS irányításával szintetizálódott messenger RNS azután már közvetlen templátja a fehérjeszintézisnek. A fehérjeszintézis folyamata lényegében a messengerben levő információ „elolvasását", dekódolását jelenti. A folyamathoz speciális aktivált aminosavak szükségesek, mert a peptidkötés szintézise energiaigényes folyamat. Az aktiválás ATP és aminosavaktiváló enzimek közreműködésével jön létre, majd ugyanezen enzim felü-

letén az aktivált aminosavak egy alacsony molekulasúlyú RNS fajtához kapcsolódnak, a transzfer vagy szállító RNS-hez (t-RNS). Az aminoacyl-t-RNS komplex azután kapcsolódik a messenger RNS-el, a messengerben levő információ programja szerint, a kapcsolódás a sejtek riboszómáinak felületén jön létre és itt történik a peptidkötések kialakítása is speciális enzimek segítségével.

Előadásomban főként a genetikus információnak az aminosavak összekapcsolódásában játszott szerepével, a kódolás problémájával kívánok részletesebben foglalkozni.

Bevezetőként ejtsünk néhány szót a fehérjeszintézis vizsgálatok kísérleti módszeréről is.

A kódolás problémái, a fehérjeszintézis részfolyamatainak felderítése a legcélszerűbben in vitro ún. „sejtmentes" rendszerben történhet. Az egyes felhasznált sejtalkotórészeket a leggyakrabban baktériumokból, *E. coli*ból vagy állati sejtekből, retikulocitákból állítják elő. A sejtmentes rendszer tartalmaz tehát bakteriális vagy állati eredetű riboszómákat, transzfer RNS-t, aminosavakat (amelyek közül egy vagy több radioaktív), aminosavaktiváló enzimeket.

Vannak olyan eljárások is, amelyeknél az aminosavaktiválást és a transzfer RNS-sel történő reakciót külön végzik, és a sejtmentes rendszerbe csak az aminosavakkal töltött RNS-t viszik be. A rendszernek tartalmaznia kell messenger RNS-t, ez lehet természetes vagy valamilyen mesterségesen szintetizált poliribonukleotid.

A fenti főalkotórészeken kívül kiegészítik a rendszert a citoplazma oldható enzimjeinek kivonatával, különböző ionokkal (leglényegesebb a magnézium), valamilyen alacsony molekulasúlyú szerves SH vegyülettel (glutationnal, vagy merkaptoetanollal), energiaforrásként szolgáló ATP-vel és valamilyen folyamatos ATP szintézist biztosító biológiai rendszerrel, valamint GTP-vel, amely speciális szerepet játszik a fehérjeszintézisben. Ha mindezek az alkotóelemek megfelelő ionkoncentráció, pH mellett együtt vannak, megindul a fehérjeszintézis folyamata.

A fehérjeszintézis menetét a rendszerben található fehérjékbe épült radioaktív aminosavak radioaktivitásának mérése alapján lehet követni. Vagy úgy, hogy egyszerűen megmérik az összes fehérje radioaktivitását, vagy pedig úgy, hogy egyes speciális fehérjéket vagy peptideket izolálnak és azok radioaktivitását külön meghatározzák.

A következőkben tekintsük át a fehérjeszintetizáló rendszer egyes alkotórészeinek szerepét, tulajdonságait.

A riboszóma

Ha állati sejteket szétroncsolunk és alacsonyabb fordulatszám mellett centrifugáljuk a homogenátumot, kiülepszik a sejtmag, a sejtfal törmeléke,

és a mitokondriumok. A felülúszóból 100 000 g-vel történő több órás centrifugálás után kiülepszik egy frakció, amelyet mikroszómának neveznek. A mikroszóma elektronmikroszkópos megfigyelések alapján apró membrándarabkák törmeléke, amelyek endoplazmatikus retikulum maradványai. A membrándarabokhoz mintegy 200 Å átmérőjű nagyobb elektrondenzitású szemcsék tapadnak. Különböző módszerekkel a szemcsék eltávolíthatók a membránról és elkülöníthetők, ezek a riboszómák (Roberts 1958). A riboszómák nemcsak az állati sejtekben, hanem baktériumokban, gombákban, gyakorlatilag minden eddig vizsgált élő sejtben megtalálhatók. Részletesebb morfológiai vizsgálatuk azt mutatja, hogy a riboszómák különböző nagyságúak lehetnek. Így pl. az *E. coli*ban háromféle riboszómát mutattak ki. Az egyes fajtákat a sedimentációs konstanssal jellemzik, ennek megfelelően találtak 30S, 50S, 70S konstanssal jellemezhető részecskéket. (Tissiéres és mt. 1959.) Kitűnt, hogy a 30S és az 50S részecskék csupán alegységei a 70S riboszómának. A két alegység összekapcsolódásában magnéziumionok játsszák a főszerepet. Nagyjából hasonló a helyzet más organizmusok esetében is, legfeljebb a szedimentációs konstansok mutatnak kisebb-nagyobb eltérést. Általában azt mondhatjuk, hogy a riboszómák mérete 70—100 S között mozog és két alegységből épülnek fel, amelyek 26—40 S és 40—60 S közötti szedimentációs értéket mutatnak.

Meghatározták az *E. coli* riboszómáinak méreteit (Gilbert 1963a).

30S	90×170 Å
50S	140×170 Å
70S	200×170 Å

A riboszómák körülbelül fele-fele arányban tartalmaznak ribonukleinsavakat és fehérjéket, amelyek között nyomokban néhány enzimet is sikerült kimutatni, azonban a riboszómák alkotórészeinek kémiai szerepéről nem sokat tudunk.

A riboszómák felfedezése után rövidesen kimutatták, hogy fontos szerepet játszanak a fehérjeszintézisben (McQuillen 1959). Több kutatócsoport foglalkozott azzal a kérdéssel, hogy a riboszómákban levő RNS milyen szerepet játszik a fehérjeszintézisben. Sikerült bizonyítani, hogy a riboszóma RNS-nek nincs speciális szerepe a fehérjeszintézisben, más szóval nem hordoz speciális információt az egyes fehérjemolekulák felépítését illetőleg (Brenner és mt. 1961, Gros és mt. 1963). Spydrides és Lipmann, valamint Gilbert kimutatta, hogy a riboszómák kapcsolódni képesek természetes és mesterséges messenger RNS-el (Spyrides és Lipman 1962, Gilbert 1963a). Riboszómákat és messenger RNS-t tartalmazó komplexeket sikerült izolálni retikulocitákból is (Warner és mt. 1962, Weinstein és mt. 1963).

Elektronmikroszkópos képen jól látható, hogy a riboszómák gyöngyszerűen vannak felfűződve a messenger RNS fonalára, a komplexnek a poliszóma nevet adták, és sikerült bizonyítani, hogy a poliszóma a legaktívabb helye a fehérjeszintézisnek.

A messenger RNS

A messenger RNS-sel kapcsolatos tanulmányok egy alapvető kísérlethez és egy alapvető teóriához nyúlnak vissza.

Volkin és Astrachan mutatta ki, hogy a T_2 fággal fertőzött *E. coli*ban fágfertőzés után képződött RNS bázisösszetétele hasonlít a T_2 fág DNS bázisösszetételére. A nem fertőzött baktériumban pedig olyan, nagy sebességgel szintetizálódó RNS frakciót sikerült kimutatni, amelynek bázisösszetétele viszont az *E. coli* DNS bázisösszetételét közelítette meg (Volkin és Astrachan 1957.).

Jacob és Monod ezután posztulálják a messenger RNS-t, mint egy mediátoranyagot a DNS és a fehérjeszintézis között. A teória szerint a messenger RNS szintézisét a DNS irányítja, így a messenger bázisainak sorrendje mintegy átveszi a DNS-ben tárolt genetikai információt. A fehérjeszintézis helyén azután a messenger bázisainak hármas csoportjai irányítják az egyes aminosavak fehérjékbe történő beépülését (Jacob és Monod 1961).

A messenger RNS kimutatására számos módszer fejlődött ki, az egyik ezek közül a DNS-sel történő hibridizálás módszere. Elméletileg várható volt, hogy a messenger RNS molekulahibridet képes alkotni azzal a DNS-sel, amelynek felületén szintetizálódott (a hibridizáció is a bázisok speciális irányító hatásán alapszik), sikerült is ilyen hibrideket kimutatni. Sagik és munkatársai *E. coli*ból Ts fágfertőzés után izoláltak egy gyorsan jelölődő RNS frakciót, amely T_2 fág DNS-sel melegítve majd lassan lehűtve DNS—RNS hibrideket adott, amelyet fajsúlylépcsős centrifugálással azonosítani lehetett (Sagik és mt. 1962).

Kifejlesztettek ezenkívül kromatográfiás módszereket is. Jó eredményeket ad a metillált szérumalbuminon történő kromatográfia (Ishihoma és mt. 1962).

Az utóbbi években fokozódtak az erőfeszítések egy speciális egyetlen fehérje szintézisét irányító messenger tiszta előállítására. Ez igen nehéz biokémiai feladatot jelent, ha arra gondolunk, hogy egy sejt mintegy 2000 különböző fehérjét, és valószínűleg nem sokkal kevesebb fajta messengert termel. Egy-egy speciális fehérje vagy enzim mennyisége maximálisan 4—5%-át teszi ki az össz-fehérjemennyiségeknek. Egy kivétel ismeretes csak, a vörösvérsejt, amelyben a hemoglobinszintézis a retikulocita érésének bizonyos szakaszán eléri az össz-fehérjetermelés több mint 90%-át. Sikerült is kimutatni a hemoglobin specifikus messenger RNS jelenlétét retikulocita riboszómákon

(Arnstein és mt. 1964, 1965). A legújabb adat erre vonatkozóan két francia kutatóé. Burmy és Marbaix közölték, hogy sikerült izolálni a hemoglobin alfa láncának szintézisét irányító messengert, nyúl retikulocita sejtekből. A messenger molekulasúlya az elméletileg várt adatoknak megfelelően 150 000 volt (Burmy és Marbaix 1965). A munka nehézségeire jellemző adatok közül talán csak egyet említenék, egy 3,5 kg-os nyúl felhasználásával mindössze 250 μg messenger RNS-t sikerült kinyerni. Természetesen ez az eredmény még további megerősítésre szorul.

Ugyancsak rendkívül ígéretesek azok a kísérletek, amelyek a gramicidin S antibiotikum szintézisét irányító mRNS szintéziséről számolnak be (Hall és mt. 1965, Sedat és Hall 1965). A gramicidin S antibiotikum dekapeptid, amely 10 aminosavat tartalmaz és a *B. brevis* termeli. (*1. ábra.*)

Gramicidin S

$$\begin{bmatrix} \text{1-valyl-1-ornithyl-1-leucyl-d-phenylalanyl-1-prolyl} \\ \text{1-prolyl-d-phenylalanyl-1-leucyl-1-ornithyl-1-valyl} \end{bmatrix}$$

1. ábra

A molekulában két D aminosav is található. A dekapeptid szintézisét irányító messenger RNS molekulasúlya a közlemények szerint 11 400 $\pm$ 100, tehát 36 $\pm$ 2 nukleotid egységből áll. Ez nagyjából megfelel a várt 10×3 értéknek. A terminális bázis mindkét végen adenin. A bázisarányok a következők:

$$A : 0{,}224 \qquad V : 0{,}192 \qquad C : 0{,}301 \qquad G : 0{,}283$$

A molekula egyszálú RNS. A kicsiny molekulasúlyt tekintve valószínű, hogy egészen rövid idő alatt sikerül majd a gramicidin S m-RNS teljes bázisszekvenciájának analízise, ami igen jelentős lépés lesz a messenger RNS hatásmechanizmusának és információs tulajdonságainak teljes felderítéséhez vezető úton. A kitűnő perspektívák mellett talán még az a tény sem olyan csüggesztő, hogy van olyan kutatócsoport, amely szerint a gramicidin S teljesen más úton szintetizálódik, mint a fehérjék általában (Berg és mt. 1965).

A transzfer RNS

Hoagland, Zamecnik és munkatársaik figyelték meg először, hogy ha aminosavakat ATP-vel és a citoplazma oldható alkotórészeivel együtt inkubálják, az aminosavak egy alacsony molekulasúlyú RNS-hez kötődnek (Hoagland és mt. 1957, 1958). Allen és munkatársai bebizonyították, hogy ez a ribonukleinsav fajta transzfer szerepet tölt be a fehérjeszintézisben (Allen és mt. 1960).

Az irodalomban váltakozva használják az adapter, transzfer RNS (t-RNS) és az oldható RNS (s-RNS) elnevezéseket, az utóbbi a preparálás módjára utal. Foglaljuk össze röviden, amit a transzfer RNS szerepéről az utóbbi években megtudtunk.

A fehérjeszintézis első lépése az egyes aminosavak aktiválási reakciója. A citoplazmában található egy enzimcsoport, amely a következő reakciót katalizálja.

$$AS + ATP + ENZ \rightarrow ENZ{-}AMP{-}As + PP$$

Az ilyen módon keletkezett enzim-aminoacyl-AMP komplex azután reagál egy, az adott aminosavnak megfelelő speciális transzfer RNS-sel a következőképpen:

$$RNSpCpCpA + ENZ{-}AMP{-}As \rightarrow RNSpCpCpA{-}As + ENZ + AMP$$

Tehát egy aminoacyl RNS vegyület jön létre, az aminosav a terminális adenozil csoporthoz kapcsolódik a 3' vagy a 2' hidroxilon keresztül. A különböző aminosavak fenti reakcióit egy-egy specifikus enzim, aminoacyl-t-RNS-szintetáz katalizálja.

A t-RNS CCA terminális bázisszekvenciája valamennyi t-RNS-ben közös. A reakció során létrejött komplex már tartalmazza a fehérjeszintézishez szükséges energia egy részét, és a további folyamatokban kapcsolatba lép a riboszómákkal és az aktivált aminosav beépül a fehérjeláncba.

A fenti folyamatok részletesebb elemzése során a következő kérdésekre kell választ kapnunk:

1. Milyen a t-RNS szerkezete?
2. A t-RNS egyes szerkezeti elemei milyen szerepet játszanak a t-RNS funkciójához, az aminosav felvételében és az aminosav transzfer reakcióban?
3. Az aminosav t-RNS szerepe az aminosav kódolásában.

Vegyük sorra a felsoroltakat:

1. A t-RNS szerkezete:

A különböző speciesekből izolált t-RNS molekulasúlya fizikai-kémiai módszerekkel mérve 23 000—28 000 közötti értéknek adódott. Ennek megfelelően egy molekula 70—80 nukleotid egységből épül fel (Brown 1963). A molekula szerkezetét illetően a vizsgálatok arra mutatnak, hogy a nukleotidok egyetlen láncot alkotnak, amely kb. a közepén hajtűszerűen visszahajlik. Ezt a hajtűszerkezetet az egyes bázisok között hidrogénkötések stabilizálják. A bázisok 82%-a vesz részt ilyen kötésekben (Englander és mt. 1965). A molekula átmérőinek arányát Lubórsky és Cantoni 9 : 1-ben állapítja meg (Lubórsky és Cantoni 1962).

Néhány szót a t-RNS nukleotid összetételéről. A nukleotid összetétel erősen különbözik a sejt többi RNS-ének hasonló adatától, de különböző forrá-

sokból izolált t-RNS-ek összetétele nagyjából hasonló. Feltűnő, hogy a t-RNS néhány speciális nukleozidot is tartalmaz, így pl. pszeudouridint (5-ribosyl uracil), dihidrouridint, inozint, dimetilguanozint, ribotimidint, metilguanozint és metilinozint (DAVIS és ALLEN 1957).

Az (A + U + ψ) (G + C) arány a különböző fajtákból izolált t-RNS-ek esetén egészen szűk intervallumban mozog, 0,6—0,7 között. A metillált bázisok szerepe még teljesen tisztázatlan. Kimutattak egy enzimet, amely a már kialakult t-RNS molekulák meghatározott bázisait metillálja, tehát a metillált bázisok „utólag" kerülnek a molekulára (BOREK 1963, GOLD és HURWITZ 1963). Methionin igényes kóli sejtek methionin éheztetésekor olyan t-RNS szintetizálódik, amelyen nincsenek metillált bázisok. In vitro kísérletben a nem metillált t-RNS ugyanolyan aminosav felvevő és transzferáló tulajdonságokat mutat, mint a metillált (MANDEL és BOREK 1963).

Az egyéb t-RNS szerkezetkutatások ismertetése meghaladná ennek az előadásnak a kereteit, de még feltétlenül meg kell említeni HOLLEY és munkatársainak ez évben elért ragyogó eredményét. Tisztázták az alanin-t-RNS teljes bázissorrendjét. (HOLLEY és mt. 1965). Feltételezik, hogy az aminosav kódolásáért felelős három bázis az „antikodon" a nukleotidlánc alkotta hurokban helyezkedik el és CGG, vagy az ennek megfelelő IGC sorrendű. Az antikodon komplementer triplettje a messenger RNS-ben levő kodon három bázisának. Ezt a kitűnő eredményt az tette lehetővé, hogy jó t-RNS izoláló módszereket sikerült találni. Az egyik legeredményesebb ilyen módszer az ellenáramú megoszlás elvén alapuló frakcionálás (GOLDSKIN, BENETTM CRAIG 1964).

2. A t-RNS szerkezete és funkciója.

A t-RNS szerkezetének közelítő ismeretében ejtsünk néhány szót a t-RNS biológiai funkciója, az aminosav megkötés és az aminosavtranszfer, valamint a t-RNS szerkezete közötti összefüggésről. Számos adat erősíti meg azt a tényt, hogy a t-RNS-nek az aminosavadenilát-enzim komplexszel reagáló szerkezeti része, az aminosav „felismerő hely" különbözik a transzfer folyamat specificitását megszabó „kódfelismerő" szerkezeti résztől. A t-RNS brómozása esetén a t-RNS aminosavfelvevő és transzfer aktivitása egymástól eltérő sebességgel inaktiválódik (YU és ZAMECNIK 1963, YU és ZAMECNIK 1964). Ugyanez a helyzet, ha a t-RNS-t ribonukleázzal (NISHIMURA és NOVELLI 1965) vagy salétromsavval (CAMBER 1964) kezelik, mindkét esetben elsősorban a transzfer aktivitás károsodik. Vegyük először szemügyre az aminosavfelvevő reakciót. Az aminosav felvételében három tényező befolyásolhatja a specificitást:

a) Az aminosav-t-RNS szintetáz enzim,

b) az adott aminosav,

c) a t-RNS.

Az aminosav-t-RNS szintetáz kétféle specificitást mutat, egyrészt specifikus az adott aminosavval szemben, másrészt specifikus a megfelelő t-RNS-sel szemben.

Az aminosav specificitás bizonyításának egyik legelegánsabb kísérletét HERVÉ és CHAPEVILLE végezte. Az aminosav aktiválás reverz reakcióját tanulmányozták (az aminosav-t-RNS reakció megfordítható) úgy, hogy egy-egy t-RNS-hez kötött aminosavat kémiai úton megváltoztattak és vizsgálták, hogy ez a változás hogyan befolyásolja az aminosav-t-RNS szintetáz működését. Megállapították pl., hogy egy cisztein-t-RNS-hez kötött alanint az enzim képtelen felismerni, nem reagál vele (HERVÉ és CHAPEVILLA 1963). Vizsgálták a mutációt szenvedett aminosav-t-RNS szintetáz enzimek működését. Így pl. parafluoro-fenilalanin rezisztens baktériumokból izolált enzim szerkezete valamilyen kisebb változást szenvedett, mert az enzim nem reagál pFF-val, míg a fenilallaninnal való reakciója változatlan. A vad típusú törzsből izolált enzim mindkét aminosavval egyformán reagál (FANGMAN és NEIHARDT 1964a, b). LEWIS izolált olyan ethionin rezisztens mutánsokat, amelyekben a metionin aktiváló enzim etioninnal nem reagál (LEWIS 1963).

Ezek az eredmények világosan mutatják, hogy az aminosav-t-RNS szintetáz enzim nagyfokú aminosav specificitást mutat. Ugyanilyen specificitást mutat az enzim a t-RNS-sel szemben is. Az élesztőből izolált aktiváló enzim az *E. coli*ból előállított kétfajta leucin transzfer RNS közül csak az egyiket képes felismerni, csak az egyiket tölti fel aminosavval (LANGERKUIST és WALDENSTRÖM 1964).

Kimutatták a t-RNS speciesek közötti ambiguitását, kétértelműségét is. Egy neurospóra törzsből izolált enzim valint képes kapcsolni *E. coli*ból előállított fenilalanin-t-RNS-re (BANETT és JACOBSON 1964). Ez az eredmény azt mutatja, hogy a t-RNS aminosav „felismerő" helye valószínűleg nem univerzális, ellentétben a kód univerzalitásával.

Az aminosav-t-RNS reakciót nagymértékben befolyásolja a t-RNS másodlagos szerkezete is. Ha pl. a t-RNS molekula hidrogénkötéseit megbontják, a nukleinsavat „kiolvasztják", az enzim képtelen a reakcióra. Ezt a tényt bizonyító kísérletnek érdekessége az, hogy egy termofil baktériumból izoláltak aminosavaktiváló enzimet, amely 70 C fokon 3M urea jelenlétében még teljes aktivitását megőrzi, míg ilyen körülmények között a t-RNS hidrogénkötései már felszakadnak és a másodlagos szerkezet tönkremegy (ARCA és mt. 1964).

A t-RNS és az aminosav kód

Végezetül pedig vizsgáljuk meg a t-RNS szerepét az aminosav kódolásban. A t-RNS funkciója lényegében az, hogy adott aminosavat a fehérjeszintézis helyére szállítsa. A t-RNS-ben levő „antikodon" révén „ismeri fel a messenger a szintézisben éppen soron következő t-RNS-t. Az aminosav kódolás

tehát ezen a ponton, az antikodon—kodon a t-RNS– messenger RNS viszonyától függ.

Ismeretes, hogy az aminosav kód degenerált, ami azt jelenti, hogy ugyanazon aminosavat több különböző bázis triplett kódolhat a messenger RNS láncában. Ennek a degenerációnak megfelelően egy aminosav transzferjét több különböző t-RNS látja el. A legrészletesebben tanulmányozták a leucin-t-RNS degenerációját. 1962-ben *E. coli*ból kimutattak kétfajta leucin transzfer RNS-t (Weisblum és mt. 1962). 1964-ben négyfajtát (Godstain és mt. 1964), 1965-ben pedig már ötfajta leucin-t-RNS-t ismerünk (Weisblum és mt. 1965). Az öt különböző leucin-t-RNS két csoportra oszlik. Az egyik csoport U és C, a másik U és G tartalmú kodonokhoz szállít aminosavat. Azt is sikerült kimutatni, hogy a leucinaktiváló enzim katalizálja a különböző leucin-t-RNS-ek aminosavainak cseréjét (Yamane és Sueoka 1964). Ezzel kapcsolatban meg kell említeni, hogy egy fehérjeláncon belül is előfordulhat ugyanazon aminosav két különböző kódja. Weisblum és munkatársai kimutatták, hogy a hemoglobin alfa láncának bioszintézisében az egyik peptidrészletben található két leucin aminosavat két különböző t-RNS szállítja. A t-RNS ilyen nagyfokú specificitása mellett érdekes, hogy a t-RNS által már megkötött aminosav a transzfer reakcióban már semmiféle specificitást nem mutat. Ha a transzfer RNS-hez kötött aminosavat kémiai úton megváltoztatják, akkor a transzfer reakció teljesen a t-RNS-nek megfelelően folyik le, így pl. egy cisztein-t-RNS-hez kötött alanin simán beépül a cisztein helyére (Chapeville és mt. 1962).

Összefoglalva tehát az elmondottakat, a t-RNS két speciális szerkezeti részlettel bír, az egyik az aminosav megkötéséért, a másik az aminosav transzferért felelős, és ez a két szerkezeti részlet egymástól független. A transzfer folyamatért felelős részlet degenerált, de valószínűleg egyértelmű. Az aminosav megkötéséért felelős részlet speciesek között valószínűleg ambiguis. Az aminosav-t-RNS szintetáz enzim magas fokú specificitással bír mind az aminosavat, mind a t-RNS-t illetően.

A fehérjeszintézis mechanizmusa

Az eddigiekben áttekintettük a fehérjeszintézisben fontosabb szerepet játszó sejtalkotórészek, a riboszóma,a messenger és a transzfer RNS kutatásának újabb eredményeit, már csak néhány, a fehérjeszintézisben szerepet játszó enzim szerepének tisztázása van hátra ahhoz, hogy a részleteket egész képpé próbáljuk összerakni és leírjuk mai ismereteink alapján a fehérjeszintézis teljes mechanizmusát.

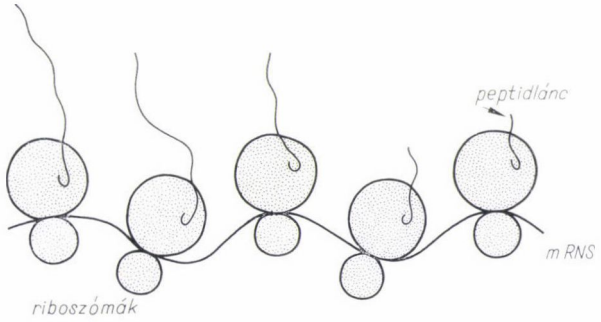
A fehérjeszintézisben az aminosavak összekapcsolódásának folyamatában eddig két enzimet sikerült kimutatni, ezek az ún. transzfer enzimek. Szerepük az aminosav-t-RNS komplex megjelenése és a kész fehérjemolekula

kialakulása között lejátszódó reakciókra korlátozódik. Patkánymájban az egyik transzfer enzimet a citoplazmában oldva, a másikat szorosan a mikroszómához kötve találták (FESSENDEN és MOLDAVE 1963). Retikulocitákon végzett vizsgálatok azt mutatják, hogy a transzfer folyamat első lépése az As-t-RNS komplex riboszómákhoz való kötődése és ehhez GTP szükséges, és riboszómához kötött messenger RNS, a második lépés a peptid szintézis, amely glutationt igényel (HARDESTY és mt. 1963, ARLINGHAUS és mt. 1964).

A retikulocitarendszerben végzett további vizsgálatok kimutatták, hogy egy-egy riboszóma 2 t-RNS molekulát képes megkötni (WARNER és RICH 1964). Ugyanez a helyzet az *E. coli* esetében is. Sikerült kimutatni a transzfer faktorokat baktériumokban is (ALLENDE és mt. 1964). RENDI és OCHOA kimutatták, hogy a transzfer enzimek fajspecifikusak (RENDI és OCHOA 1962). Az Orvosi—Vegytani Intézetben MACHOVICH és ZABOS vizsgálatai szerint a fajspecificitás csak a mikroszómához kötött enzimre terjed ki, a másik transzfer enzim nem fajspecifikus (MACHOVICH és ZABOS 1965, személyes közlés).

A transzfer enzimek felfedezése után részletesebben vizsgálták a transzfer folyamatait (NAKOMATO és mt. 1963). Megállapítják, hogy a fehérjeszintézist egy rövid indukciós szakasz vezeti be, ezalatt a t-RNS-As komplex kötődik a riboszómákhoz 50S alegységhez. A messenger RNS a 30S alegységhez kötődik. A kötődés után indul meg a peptidlánc szintézise. A transzfer mechanizmusának tisztázásában a következő fontos lépés a peptid-t-RNS komplexek izolálása volt. Poliuridilsav mint mesterséges messenger jelenlétében polifenilalanin szintézisét vizsgálták és sikerült kimutatni a szintézis során keletkező di, tri és oligo fenilalanil-t-RNS-t. A peptidil-t-RNS-ek az 50S riboszómához voltak kötve (CANNON és mt. 1963). Kimutatták, hogy puromicin antibiotikum jelenlétében a peptidil-t-RNS elhagyja a riboszómákat. A puromicin szerkezete nagyon hasonlít a t-RNS-hez a fehérjeszintézis során az antibiotikum a t-RNS-t helyettesíteni képes a transzferfolyamatban és az épülő fehérjelánc átkerül a puromicin molekulára és azzal együtt elhagyja a riboszómát. Ilyen puromicinhez kötött peptideket sikerült is izolálni (NATHANS 1964). A puromicinnel végzett kísérletek nagymértékben elősegítették a transzfer mechanizmusának tanulmányozását. A transzfer folyamatban szereplő riboszómák működését vizsgálva kimutatják, hogy a poliszómán belül minden egyes riboszómán egy külön peptidlánc szintézise folyik (WARNER és RICH 1964). (2. *ábra.*) Részletesen vizsgálták azt is, hogy melyik vége felől kezdődik a peptidlánc szintézise, az N vagy a C terminális felől. Hemoglobin szintézisét vizsgálták és azt találták, hogy rövid inkubációs idő alatt a molekulába épült aminosavak specifikus radioaktivitása a C terminális felé nő, tehát a szintézis az N terminális felől kezdődik (DINTZIS 1962). Ugyanezt állapították meg tojásfehérje lizozim esetében is (CANFIELD és ANFINSEN 1963). Ezt az állati szervezetben nyert eredményt megerősítették baktériumokon végzett vizsgálatokkal is. A baktériumok fehérjeszintézise igen gyors az állati sejtekéhez képest, ezért igen

nehéz hasonló típusú kísérletet végezni. GOLDSTEIN és munkatársai találtak igen szellemes megoldást erre a problémára (GOLDSTEIN és mt. 1964). 0 C fokra hűtött *E. coli*ban vizsgálták a fehérjeszintézis folyamatát. Ilyen körülmények között a fehérjeszintézis 350 × lassabban folyik mint 37 C fokon, de egyébként teljesen azonos módon megy végbe. Kimutatták, hogy a fehérjelánc szintézise az *E. coli*ban is az N terminális felől kezdődik. Érdekes adatuk még az, hogy 37 fokon egy 400 aminosavmaradékot tartalmazó fehérjelánc szintézise 5 sec. alatt végbemegy.



2. ábra

Állati sejtek esetében végzett vizsgálatok szerint a fehérjeszintézis sebessége majd egy nagyságrenddel kisebb (DINTZIS 1961).

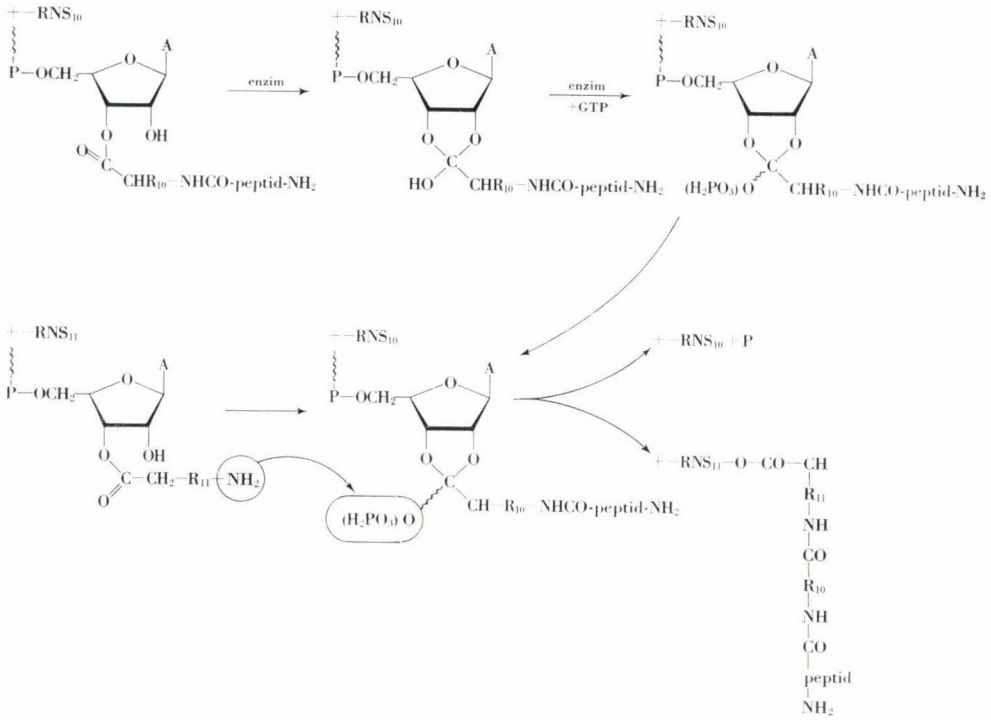
Az eddig elmondott szerteágazó kísérleti adatokat a következőkben foglalhatnánk össze:

1. A riboszómán 1 peptidlánc szintézise folyik.
2. A peptidlánc szintézise az N terminális vég felől kezdődik.
3. A fehérjeszintézis első lépése az aminosavval töltött t-RNS-nek és a messenger RNS-nek a riboszómához való kötődése.
4. Peptidil-t-RNS képződése.

A következőkben olyan munkákról szeretnék beszámolni, amelyek ezeket az eredményeket kiegészítve megpróbálják a szintézis teljes mechanizmusát leírni. Elsőnek említeném HAWTREY munkáját, aki az eddigi adatok alapján a t-RNS peptidek kialakulására a következő reakciómechanizmust dolgozta ki (HAWTREY 1964; *3. ábra.*)

A t-RNS-hez kapcsolódó peptid karboxilcsoportja az egyik transzfer enzim segítségével egy ciklikus észter kötésbe lép a t-RNS láncvégi adenozin csoportjának ribózával a 2' hidroxilon keresztül. Így a C terminálison egy szabad OH csoport keletkezik. Ez a szabad OH a másik transzfer enzim és GTP segítségével magas energiatartalmú kötést létesít foszforsavval vagy magával az enzimmel. Ezután a belépő következő t-RNS-hez kapcsolt aminosav amino-

csoportja ezzel az észteresített hidroxillal reakcióba lép, peptidkötés alakul ki, és az eggyel megnövelt tagszámú peptid átkerül az új t-RNS-re, a régi pedig leválik. Ez a modell jól magyarázza a GTP igényt és azt a jelenséget, hogy a peptidlánc a szintézis során állandóan valamelyik t-RNS-hez van kötve.

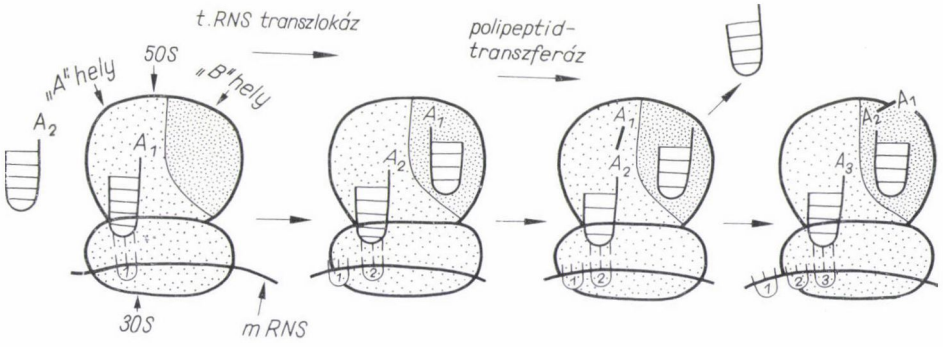


3. ábra

A puromicin hatásmechanizmusának tanulmányozásából állítottak fe a kísérleti adatokkal jó összhangban levő modellt Traut és Monro (Traut és Monro 1964: *4. ábra.*) A modell a következőképpen írható le:

A riboszómákon 2 t-RNS felvevő hely van (A, B). Az A helyhez való kötődés energiát nem igényel, ide kötődik az első t-RNS. A kötődő t-RNS-t az ugyancsak riboszómához kötött messenger RNS 3 nukleotid egysége, kodonja „választja" ki, ezután GTP és az első transzfer enzim a t-RNS transzlokáz közreműködésével átkerül a riboszóma B helyére. A szabaddá vált A helyre ismét kötődik egy As-t-RNS. Ezután a második transzfer enzim a polipeptid-transzferáz a B helyen kötődött aminosav-t-RNS komplex aminosavát átviszi az A helyre kötődött t-RNS-re és kialakítja a peptidkötést. Ezután a folyamat állandóan ismétlődik, mert a riboszóma lassan 3—3 bázisnyi távolsággal továbbgördül a messenger RNS-en, amelynek bázisai irányítják a transzfer RNS-ek kötődését. Az első riboszóma után a messenger szabad végéhez egy

újabb riboszóma kapcsolódik, amely ismét elkezdi a messenger dekódolását, majd egy következő és így tovább, alakul ki a jellegzetes poliszóma struktúra, amelynek minden riboszómáján egy peptidlánc szintézise folyik. Ahogyan a riboszómák távolodnak a messenger kezdő végétől, úgy növekszik rajtuk a peptidlánc, mire a messenger végére érnek, a teljes fehérjemolekula elkészül és leválik a riboszómáról. Újabban ezt a modellt is továbbfejlesztették (WEINSTEIN és NOLL 1965). Megállapították, hogy a t-RNS háromféle állapotban található a riboszómákon.



4. ábra

1. As nélkül lazán kötve a riboszómákhoz, ez a kötődés nem energiaigényes és mosással eltávolítható.

2. As-sal töltve, erősen kötve, a kötődéshez GTP szükséges.

3. Mint a polipeptidyl-t-RNS.

Ennek megfelelően a riboszómán 3 helyet tételezhetünk fel:

1. Belépő vagy dekódoló hely, itt történik a messenger RNS hármas báziscsoportjainak, kodonjainak megfelelő t-RNS azonosítása, ehhez enzim szükséges.

2. Kondenzáló hely. Az előzőleg bekötődött t-RNS enzim közreműködésével ide kerül, itt a másik transzfer enzim a rajta levő peptidláncot átviszi az új t-RNS-re, amely ebben a pillanatban még a dekódoló helyen van. A „régi" t-RNS átkerül a

3. kilépő helyre, ahonnan eltávozik.

Természetesen ez a modell sem tekinthető végsőnek és várható, hogy a fehérjeszintézis egyes részletfolyamatai esetleg fajonként is különböznek, bár túl nagy különbségekre nem lehet számítani.

A fehérjeszintézis közvetlen mechanizmusáról szerzett ismereteinket nagyjából összefoglaltuk. Mielőtt továbbmennénk, feltétlenül meg kell említeni egy érdekes kísérletsorozatot, amely a fehérjeszintézis folyamatai és a sejt öröklési anyaga, a DNS közötti szoros kapcsolatra mutat. Sikerült izolálni

olyan aktív fehérjeszintézist folytató komplexeket, amelyek riboszómákat, messenger RNS-t és DNS-t tartalmaztak. A kísérleteket *E. coli*val és T_2 fággal végezték. A kísérleti eredményekből arra következtettek, hogy a fehérjeszintézis folyamata legalábbis a baktériumokban szorosan össze van kapcsolva messenger szintézis folyamataival. A feltevések szerint a DNS felületén megindul a messenger szintézise, majd a már elkészült messenger lánc végéhez kapcsolódik egy riboszóma, majd több és megindul a fehérjeszintézis folyamata (Byrene és mt. 1964, Eiserling és mt. 1964). A szintézis alatt tehát a DNS a messenger RNS és a riboszómák közös komplexet alkotnak. Feltételezik azt is, hogy a messenger RNS csak akkor kezd elválni a DNS-től, ha ezt a folyamatot riboszómák iniciálják. Ha ez a feltevés beigazolódik, igen messzemenő következtetéseket lehet majd levonni belőle a fehérjeszintézis szabályozásának szempontjából is.

Állati sejtek esetében, ahol a messenger RNS stabilis, valószínűleg más a helyzet.

A genetikai kód problémája

A fehérjeszintézis mechanizmusának tárgyalása után a genetikai kód felderítésének biokémiai problémájával kívánok részletesebben foglalkozni, mert az elmúlt két évben ezen a területen előre nem várt óriási fejlődés következett be. Célszerű lesz talán bevezetőként itt is összefoglalni azokat a tételeket, amelyek már kielégítően bizonyítottak.

A fehérjék aminosavsorrendjét a nukleinsavak bázissorrendje, a kód szabja meg. Az egy aminosav beépüléséért felelős báziscsoportot kodonnak nevezik. A kód hármas tagozódású, tehát egy kodon három nukleotid egységből áll. A kód vesszőmentes és nem átfedő, ami azt jelenti, hogy az egyes aminosavak beépüléséért felelős kodonok szorosan egymás után következnek, közbülső bázisok nincsenek és egy meghatározott aminosav kodonjában levő bázisok nem vesznek részt az előző vagy a következő aminosav kódolásában. A kód kolineáris. Ez azt jelenti, hogy ahogyan a fehérjeláncban következnek az egyes aminosavak, ugyanolyan lineáris sorrendben helyezkednek el a nukleinsavban a megfelelő kodonok. A kód degenerált, tehát egy meghatározott aminosav beépüléséért több különböző kodon felelhet. A kód univerzális, tehát az egész élővilágban egyértelműen egy kodonnak ugyanaz az aminosav felel meg. A fenti összefoglalás után térjünk rá a genetikai kód biokémiájára.

A kód szekvenciája

Nyugodtan állíthatjuk, hogy a genetikai kód mindaddig szellemes elképzelés volt csupán, míg Nirenberg kísérletei a kód kísérletes tanulmányozásának lehetőségét meg nem teremtették (Nirenberg és Matthaei 1961). Nirenberg kísérleteihez lényegében egy mesterséges fehérjeszintetizáló modellt

használt. Ebben a modellben a messenger RNS-t egy mesterségesen szintetizált poliribonukleotid helyettesítette. A különböző bázisösszetételű polinukleotidok más-más aminosav peptidkötésbe való beépülését segítették elő. A poliribonukleotidokban levő bázistriplettek előfordulási valószínűségeit kiszámítva következtetni lehetett az egyes aminosavak kódjaira. Az egyes kódszavak tehát ismertté váltak, de mivel a kodonon belüli bázisok sorrendje felderítetlen maradt, sokáig úgy látszott, hogy még igen hosszú időnek kell eltelnie ahhoz, hogy valóban exakt kód szótárral rendelkezzünk. Ebből a helyzetből ismét NIRENBERG kísérletei mutattak kivezető utat. NIRENBERG és LEDER leírtak egy módszert, amelynek segítségével meg lehetett állapítani az egyes kódszavak betűinek a bázisoknak pontos sorrendjét (NIRENBERG és LEDER 1964). Kimutatták, hogy az aminosavval töltött t-RNS riboszómához való kötődését nemcsak nagyobb molekulasúlyú természetes vagy szintetikus messengerek segítik elő, hanem már három nukleotid egységet tartalmazó trinukleotidok is. Ezeket pedig mesterséges úton meghatározott bázissorrendben könnyen elő lehet állítani.

Az előbb a fehérjeszintézis mechanizmusának tanulmányozásánál láttuk, hogy a t-RNS a riboszóma dekódoló helyéhez a messenger RNS bázisainak irányító hatására kerül, ezekből a kísérletekből kiderült, hogy a kötődéshez valóban elegendő három egymás mellett levő nukleotida. Dinukleotidok hatására a kötődés nem következik be, ami újabb bizonyítéka annak, hogy a kódszavak három nukleotidot foglalnak magukba. Az első kísérletekben még homológ nukleotidokkal dolgoztak, megállapítva, hogy a pUpUpU trinukleotid a fenilalanin a pApApA a lizin a pCpCpC a prolintartalmú t-RNS bekötődését segíti elő. Vizsgálták azt is, hogy a trinukleotida végén levő foszfátcsoportnak van-e valamilyen speciális szerepe a kódolásban. Megállapították, hogy az 5′ foszfáttal rendelkező trinukleotid jobb templát, mint a foszfát nélküli, a 3′ foszfát pedig egészen rossz beépülést ad.

A következő közleményben (LEDER és NIRENBERG 1964) meghatározzák a valin kódjainak szekvenciáját. Idáig is ismert volt, hogy a valin-t-RNS-t 2U és 1G tartalmú kódon irányítja a fehérjeláncba. NIRENBERG és LEDER kimutatta, hogy a háromféle lehetséges kombinációból csak a GpUpU sorrendű trinukleotid irányít valin-t-RNS-t a riboszómákhoz, az UpGpU és az UpUpG pedig nem. Ez volt az első nem-homológ kodon, amelynek pontos sorrendjét megfejtették.

Nem sokkal a NIRENBERG kísérletek után közölt érdekes eredményeket KHORANA és munkacsoportja, akik a régi úton haladva értek el eredményeket (NISHIMURA és mt. 1965 a, b, c). Kémiai szintézissel előállított dezoxipolinukleotidokkal, mint primerrel, RNS polimeráz enzim segítségével ismert szekvenciájú RNS poliribonukleotidokat állítottak elő, és ezeket mint mesterséges messengereket felhasználva vizsgálták, hogy milyen aminosavak beépülését kódolják. Így pl. a váltakozva C és U bázistartalmú RNS polinukleotid szerin

és leucin beépülését segítette elő. Ha felírjuk a poliribonukleotid hosszabb darabját, azonnal szembetűnik, hogy a leucin és a szerin kódjának a CpUpC és az UpCpU szekvencia jön számításba. Tekintve, hogy az előző NIRENBERG-kísérletekből ismert volt, hogy a szerin kódjában 2 U és 1 C a leucin kódjában 2 C és 1 U található, világos volt, hogy a szerint az UpCpU, a leucint CpUpC triplettek kódolják. Mindamellett, hogy ez a módszer is nagyon szellemes, a teljes kódszótár felderítésére nem volt eléggé gyors. NIRENBERG és munkatársai egymás után következő közlemények egész sorában jelentették be az újabb aminosavak kódszekvenciáit (TRUPIN és mt. 1965, BERNFIELD és NIRENBERG 1965). A legutolsó megjelent közleményben már 45 nukleotid triplett aminosav irányító hatását tisztázták, 45-t a lehetséges 64-ből (NIRENBERG és mt. 1965: 5. ábra).

KÓDSZÓTÁR 1965

UUU	Phe	*UCU*	Ser	*UGU*	Cys	*UAU*	Try
UUC		*UCC*		UGC		*UAC*	
UUA	Leu	UCA	Ser	*UGA*	semmi*	*UAA*	semmi**
UUG		*UCG*		UGG	v. Try	*UAG*	
CUU	Leu	*CCU*	Pro	CGU	Arg	*CAU*	His
CUC	semmi*	*CCC*		*CGC*		*CAC*	
CUA	Leu	*CCA*	Pro	*CGA*	Arg	*CAA*	Gln
CUG		CCG		CGG		*CAG*	
AUU	Ileu	*ACU*	Thr	*AGU*	Ser	*AAU*	Asn
AUC		*ACC*		*AGC*		*AAC*	
AUA	Met	*ACA*	Thr	*AGA*	semmi*	*AAA*	Lys
AUG		*ACG*		AGG	v. Arg	*AAG*	
GUU	Val	*GCU*	Ala	*GGU*	Gly	*GAU*	Asp
GUC		GCC		GGC		*GAC*	
GUA	Val	GCA	Ala	GGA	Gly	*GAA*	Glu
GUG		GCG		GGG		GAG	

* = „nonszensz" ha terminális, de internálisan olvasható
** = „nonszensz", de lehet a terminátor kodon

5. ábra

Az ábrán aláhúzva a 45 ismert szekvenciát láthatják, 19 szekvenciát pedig NIRENBERGék megjósoltak az eddig ismert adatok alapján.

Feltételezve, hogy a kódszótár végleges és legfeljebb jelentéktelenül változik már, nézzük meg, hogy milyen általános következtetéseket lehet tanulmányozása során levonni. A táblázatból látható, hogy bár a kód hármas, mégis a legtöbb esetben csak az első két bázis szigorúan megszabott, a harmadik változhat sokszor négyféleképpen is, tehát a kód általános képlete XY· sorrenddel írható le. Ez a jelenség felveti a leolvasás specificitásának problémáját. Vajon pl. a valin esetében a kód harmadik tagját minden esetben egyformán értelmezi a riboszóma, vagy pedig a 4 különböző kodon egymástól füg-

getlenül előfordul és négy különböző t-RNS felelős a kód lefordításáért. A t-RNS tárgyalásánál említettük, hogy a leucin esetében 5 fajta t-RNS ismeretes, azonban ma még csak annyit tudunk, hogy ezek két csoportra, UC és UG tartalmú kodonra válaszoló t-RNS-ek csoportjára bonthatók. Azt nem tudjuk, hogy vajon mindegyik leucin-t-RNS különböző kodonnak felel-e meg, és ha igen, akkor miért van 5 fajta? NIRENBERGék feltételezik, hogy a kód leolvasó berendezés a harmadik betű esetében U-t és C-t, valamint G-t és A-t egyformán értelmez, így ez a jelenség magyarázható lenne. Megfigyelhetünk azonban más érdekes jelenségeket is, amelyek a kód evolúciója szempontjából jelentősek. Feltűnő, hogy egyes közös perkurzorból származó, vagy közös anyagcserefolyamatban résztvevő aminosavak kódjai hasonlítanak egymásra. Így pl. az izoleucin-methionin, az asparagin-lizin, asparaginsav-glutaminsav kódja.

VOLKENSTEIN összehasonlította a poláris és apoláris aminosavak kódját és ezek között jelentős különbségeket talált (VOLKENSTEIN 1965: 6. ábra).

Aminosav kódok bázisarányai

	Össz. As.	Poláris As.	Apoláris As.
U/A	1,04	0,47	2,85
G/C	1,05	0,61	1,64
U/C	0,73	0,87	2,35
G/A	1,02	0,33	2,00

6. ábra

A poláris aminosavak főleg az AC, az apolárisak főleg GU-t tartalmaznak.

A kódszótár egészen új jelentős eredménye a genetikának. Segítségével elérhető közelségbe került egyes gének bázissorrendjének meghatározása is. Természetesen még számos nyitott kérdés van. Pl. az egyes triplettek aminosavbeépülést fokozó hatása a NIRENBERG rendszerben nagyon eltérő és ennek a jelenségnek nincs kielégítő magyarázata. Több közlemény foglalkozik azzal a kérdéssel, hogy a mesterséges és a természetes messengerek használatával nyert adatok mennyire hasonlíthatók össze. A mesterséges messengerekkel iniciált fehérjeszintézis sok szempontból eltérő tulajdonságokat mutat (WOLFE és WEISBERGER 1965).

Terminátor kodonok

Kódszótárban láthattunk néhány olyan triplettet, amelyek nem hoznak létre aminosav inkorporációt, ún. „nonszensz" triplettet. Ismerünk olyan genetikai kísérleteket, amelyek megerősítik a nonszensz triplettek létezését és biológiai funkciójukról bizonyos felvilágosítást adhatnak. GARREN és SIDDIGI

kimutatták, hogy az *E. coli* alkalikus foszfatáz génjében történő ún. amber mutációk esetén a baktérium nem termel semmiféle, az alkalikus foszfáthoz immunológiailag hasonló fehérjét (GARREN és SIDDIGI 1962). BENZER és CHAMPE ugyanezt a jelenséget mutatta ki a T_4 fág rII génjével kapcsolatban. Itt is izolálhatók olyan mutánsok, amelyekben a hibátlan gén produktumához immunológiailag hasonló fehérjét kimutatni nem lehet (BENZER és CHAMPE 1961, BENZER és CHAMPE 1962). Feltételezik, hogy ezekben az esetekben a genetikus információ átadása a gén egy pontján megszakad, így a mutáció helyétől függően csak egy hosszabb, rövidebb peptidlánc szintetizálódik a teljes fehérjelánc helyett. Feltételezik azt is, hogy mindkét esetben a mutáció következtében egy nonszensz kodon jön létre és ezért szakad meg az információ átadása. WEIGH és GARREN kimutatja, hogy ezek a mutánsok mutagén ágensekkel való kezeléssel a mutáció revertálható, az alkalikus foszfatáz esetében ilyen revertált mutánsok alkalikus foszfatázának peptid analízisének vizsgálatával kiderült, hogy a revertáció esetén ritkán termelődik az eredeti aminosav sorrendű alkalikus foszfatáz, a legtöbb esetben a mutációt szenvedett, majd revertált helyen egy aminosav változás történik. Az ismert változásokból következtetnek a nonszensz kodon bázisösszetételére (WEIGH és GARREN 1965). BENZER és munkatársai a T_4 fág amber mutánsaiból izoláltak olyan szupresszor mutánsokat, amelyekben a teljes fehérje és a peptidlánc darab együtt termelődik és a teljes fehérjében egy aminosavcserét lehet kimutatni (BENZER és mt. 1965) 7. ábra. Ezekben a mutánsokban a mutáció a VII régiótól távol eső, pontosabban még nem identifikált helyen következik be.

A T_4 fág feji részében levő fehérjelánc egy részlete:

Vad típus	Ala. Gly. Val. Phe.Asp. Phe. *Gln.* Asp. Pro. Ile. Asp. Ile. . . .
amber mutáns	Ala. Gly. Val. Phe. Asp. Phe.
suppressor mutáns	Ala. Gly. Val. Phe. Asp. Phe. és Ala. Gly. Val. Phe. Asp. Phe. *Ser.*. Asp. Pro. Ile. Asp. Ile. . . .

7. ábra

A fenti kísérletek alapján feltételezik, hogy a nonszensz kodon tulajdonképpen egy terminátor kodon és a peptidlánc befejezését irányítja. Lehetséges, hogy a peptidlánc befejezéséhez is egy különleges t-RNS szükséges, amely nem hordoz aminosavat. A szupresszor mutációknál feltehetőleg olyan változás következett be, amely vagy a nonszensz kodont teszi értelmezhetővé, valamilyen t-RNS-beli változás révén, vagy esetleges a peptidlánccleválást elősegítő t-RNS töltődik fel aminosavval (valamelyik aminosav aktiváló enzim változása

következtében) és így a „leválás" helyett folytatódik a peptidlánc épülése. A nonszensz kodonok létét NIRENBERG közvetlen kísérletei is bizonyítják, biológiai funkcióját illetően azonban még véglegeset nem mondhatunk, feltehetően tisztázza ezt a kérdést az első természetes messenger bázisszekvenciájának meghatározása.

Modulátor kodonok

Pusztán genetikai kísérletek alapján következtetnek speciális modulátor kodonok létezésére is.

Ismeretesek azok a kíséiletek, amelyek azt valószínűsítik, hogy az egy operonhoz tartozó enzimek egyetlen messenger RNS-en szintetizálódnak (MARTIN 1963). Valószínű az is, hogy az operon egy polarizált egység. Pl. az egy operonhoz tartozó β-galaktozidáz és a tiogalaktozid—transzacetiláz cisztronok nagyságrenddel eltérő számú enzim molekula szintézisét irányítják, noha a szintézis egy messengeren történik (ZABIN 1963).

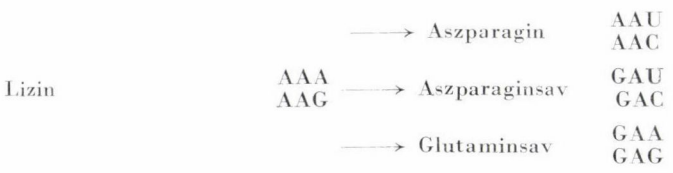
A polarizációra mutatnak az ún. polarizációs mutánsok is. Itt a mutáció következtében az operonon belül egy enzim elveszíti aktivitását és az operonban az utána következő enzimek szintézisének sebessége csökken (AMES és HARTMAN 1963). A jelenségnek többen próbáltak magyarázatot adni, feltételezik, hogy az egyes cisztronok között ún. modulátor kodonok vannak, a modulátor kodonhoz tartozó t-RNS ritkábban fordul elő, ezért ezen a ponton a t-RNS felvétele sebességmeghatározó faktor lesz, nyilvánvaló, hogy az összes modulátor kodon utáni cisztronon lassabban folyik emiatt a fehérjeszintézis.

Egy másik elképzelés szerint a modulátor kodon jelenléte következtében a messenger RNS könnyebben bomlik le nukleázok hatása, ezért messenger modulátor kodon utáni darabja kevesebb fehérje molekula szintézisében vesz részt (ITANO 1963, STENT 1964).

Az előbb láttuk, hogy valószínűleg speciális kodonok fejezik be a fehérjeszintézist, bár ez a probléma még nincs eldöntve. Egyszerűbbnek látszik annak a kérdésnek eldöntése, hogy a messenger melyik végén kezdődik a fehérjeszintézis. Több munkacsoport teljesen egybehangzó eredménye szerint a riboszómák a messenger RNS 3′ OH-val kezdődő végén kezdik működésüket és itt kezdődik a kodonok leolvasása (WAHABA és mt. 1962, WILLIAMSON és SCHWEET 1965, EIKENBERRY és RICH 1965).

A mutáció során létrejövő aminosavhelyettesítésekkel és ezek szerepével a kódprobléma megoldásában, nem foglalkoztam, kuriózumként mégis megemlítenék egy kísérletet. BEALE és LEHMAN legújabb közleményükben leírják, hogy ismeretes volt egy olyan hemoglobin mutáció, ahol lizina-sparaginsavcsere történt, ezt nem volt könnyű megmagyarázni. Feltételezték, hogy itt dupla mutáció jött létre, mert az ismert kodonokból másképp az aminosavcserét levezetni nem lehetett. A 8. ábrán láthatók a feltételezett variációk. Dupla

mutációnak viszont igen kicsi a valószínűsége, sokkal reálisabb volt feltételezni, hogy egy lizin-glutaminsavcsere történt, ennek viszont a kémiai analízis adatai mondottak ellent. Ezért még egyszer újra vizsgálták a kérdéses mutáns hemo-



8. ábra

globint, kiderült, hogy az első eredmény tévedésen alapult, valóban az elméleti feltevéseknek megfelelően lizin-glutaminsavcsere történt. Mint a szerzők írják, ez volt az első eset, hogy nem fehérjeszerkezet vizsgálat segített egy genetikai probléma megoldásában, hanem fordítva, a genetika eredményei nyújtottak segítséget egy fehérjeszerkezeti kérdés eldöntéséhez (Beale és Lehman 1965).

IRODALOM

Allende, I. E., Monro, R., Lipmann, P.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **51,** 1211 (1964).
Allen, E. H., Glassmann, E., Cordes, E., Schweet, R. S.: J. Biol. Chem. **235,** 1068 (1960).
Ames, B. N., Hartman, P.: Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **28,** 349 (1963).
Arca, M., Calvori, C., Frontali, L., Tecce, G.: Biochim. Biophys. Acta **87,** 440 (1964).
Arlinghaus, R., Shaffer, I., Schweet, R.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **51,** 1291 (1964).
Arnstein, H. R., Cox, R. A., Hunt, J. A.: Biochem J. **92,** 648 (1964).
Arnstein, H. R., Cox, R. A., Gould, H.: Biochem J. **95,** 62P (1965).
Banett, W. E., Jacobson, K. B.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **51,** 642 (1964).
Beale, D., Lehman, H.: Nature **207,** 259 (1965).
Benzer, S., Champe, S. P.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **47,** 1025 (1961).
Benzer, S., Champe, S. P.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **48,** 1114 (1962).
Berg, T. L., Frøholm, L. O., Laland, S. G.: Biochem J. **96,** 43 (1965).
Bernfiel, M. R., Nirenberg, M. W.: Science **147,** 479 (1965).
Borek, E.: Cold Spring Harbour Symp. **28,** 139 (1963).
Brenner, S., Jacob, F., Meselson: Nature **190,** 576 (1961).
Brenner, S., Strenton, A. O. W., Kaplan, S.: Nature **206,** 994 (1965).
Brown, G. L.: in Progress In Nucleic Acid Research 2, 260 (ed. by I. N. Davidson and W. E. Cohn) Academic Press London—New York (1963).
Burmy, A., Marbaix, G.: Biochim. Biophys. Acta **103,** 409 (1965).
Byrene, R., Levin, J. G., Bladen, H. A., Nirenberg, M. W.: Proc. Natl. Acad. U. S. **52,** 140 (1964).
Camber, J. A.: Biochem. Biophys. Res. Commun. **15,** 1 (1964).
Canfield, R. E., Anfinsen, C. B.: Biochemistry **2,** 1073 (1963).
Cannon, M., Krug, R., Gilbert, W.: J. Mol. Biol. **7,** 360 (1963).
Chapeville, F., Weisblum, B., Lipmann, F., Ray, W. I., Ehrenstein, G., Benzer, S.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **48,** 1086 (1962).
Davis, F. F., Allen, F. W.: J. Biol. Chem. **227,** 907 (1957).
Dintzis, H. M.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **47,** 247 (1961).
Dintzis, H. M.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **48,** 1822 (1962).
Eikenberry, E. F., Rich, A.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **53,** 668 (1965).
Eiserling, F., Levin, J. G., Byrene, R., Karlsson, V., Nirenberg, M. W., Sjöstrand, F. S.: J. Mol. Biol. **10,** 536 (1964).

ENGLANDER, S. W., ENGLANDER, J. J.: Pric. Natl. Acad. Sci. U. S. **53,** 370 (1965).
FANGMAN, W. L., NEIHARDT, F. C.: A. J. Biol. Chem. **239,** 1839 (1964).
FANGMAN, W. L., NEIHARDT, F. C.: B. J. Biol. Chem. **239,** 1844 (1964).
FESSENDEN, J. M., MOLDAVE, K.: J. Biol. Chem. **238,** 1479 (1963).
GARREN, A., SIDDIGI, O.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **48,** 1121 (1962).
GILBERT, W.: J. Mol. Biol. **6,** 389 (1963a).
GILBERT, W.: J. Mol. Biol. **6,** 374 (1963b).
GOLD, M., HURWITZ: J. Cold. Spring. Harbor. Symp. **28,** 149 (1963).
GOLDSTEIN, I., BENETT, T. P., CRAIG, L. C.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **51,** 119 (1964).
GOLDSTEIN, A., GOLDSTEIN, B. D., LOWNEY, L. I.: J. Mol. Biol. **9,** 213 (1964).
GROS, F., NAONO, S., ATTARDI, G., DUBERT, J. M., JACOB, F.: Proc. Intern. Symp. on Mechanisms of Regulation of Cellular Activities in Microorganisms C. N. R. R. Marseille (1963).
HALL, J. B., SEDAT, J. W., ADIGA, R. P., KEMURA, I., WINNICK, T.: J. Mol. Biol. **12,** 162 (1965).
HARDESTY, B., ARLINGHAUS, R., SHAEFFER, J., SCHWEET, R.: Cold. Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **28,** 215 (1963).
HAWTREY, A. O.: Nature **202,** 1179 (1964).
HERVÉ, I., CHAPEVILLE, F.: Biochim. Biophys. Acta **76,** 493 (1963).
HOAGLAND, M. B., ZAMECNIK, P. C., STEPENSON, M. L.: Biochim. Biophys. Acta **24,** 215 (1957).
HOAGLAND, M. B., STEPHENSON, M. L., SCOTT, J. F., HECHT, L. J., ZAMECNIK, P. C.: J. Biol. Chem. **231,** 241 (1958).
HOLLEY, R. W., APGAR, I., EVERETT, G. A., MADISON, J. T., MAROUISE, M., MERRIEL, S. H., PENSWICK, J. R., ZAMIR, A.: Science **147,** 1462 (1965).
ITANO, H.: Proc. Symp. Abnormal Haemoglobins Ibadan, Nigeria (1963).
ISHIKAMA, A., MIZUNO, N., TOKAI, M., ATAKA, E., OSAWA, S.: J. Mol. Biol. **5,** 251 (1962).
JACOB, F., MONOD, J.: J. Mol. Biol. **3,** 318 (1961).
LANGERKVIST, U., WALDEBSTRÖM, J.: J. Mol. Biol. **8,** 28 (1964).
DEDER, P., NIRENBERG, M. W.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **52,** 420 (1964).
LEWIS, D.: Nature **200,** 151 (1963).
LUBORSKY, S. W., CANTONI, G. L.: Biochim. Biophys. Acta **61,** 481 (1962).
MACHOVICH, R., ZABOS, P.: személyes közlés (1965).
MANDEL, L. R., BOREK, E.: Biochemistry **2,** 560 (1963).
MARTIN, R.: Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **28,** 357 (1963).
MCQUILLEN, K., ROBERTS, R. B., BRITTEN, R. J.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **45,** 1437 (1959).
NAKAMATO, T., CONWAY, T. W., ALLENDE, I. E., SPYRIDES, G. J., LIPMANN, F.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **48,** 227 (1963).
NATHANS, D.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **51,** 585 (1964).
NIRENBERG, M. W., MATTHAEI, I. H.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **47,** 1588 (1961).
NIRENBERG, M. W., LEDER, P.: Science **145,** 1399 (1964).
NIRENBERG, M. W., LEDER, P., BERNFIELD, M., BRIMACOMBE, I., TRUPIN, R., RATTMAN, F., O'NEAL, C.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **53,** 1161 (1965).
NISHIMURA, S., JACOB, T. M., KHORANA, H. G.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **52,** 1494 (1965).
NISHIMURA, S., JONES, D. S., KHORANA, H. G.: J. Mol. Biol. **13,** 302 (1965).
NISHIMURA, S., JONES, D. S., OHTSUKA, E., HAYATSU, H., JACOB, T. M., KHORANA, H. G.: J. Mol. Biol. **13,** 283 (1965).
NISHIMURA, S., NOVELLI, G. D.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **53,** 178 (1965).
RENDI, R., OCHOA, S.: J. Biol. Chem. **237,** 3707 (1962).
ROBERTS, R. B.: in Microsomal Particles and Protein Synthesis (R. B. ROBERTS ed.) p. VIII. Pergamon Press New York (1958).
SAGIK, B. P., GREEN, M. H., HAYASHI, M., SPIEGELMAN, S.: Biophys J. **2,** 409 (1962).
SEDAT, J. W., HALL, J. B.: J. Mol. Biol. **12,** 174 (1965).
SPYRIDES, G., LIPMAN, F.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **48,** 1977 (1962).
STENT, G. S.: Science **144,** 816 (1964).
TISSIÉRES, D., WATSON, J. D., SCHLESSINGER, D., HOLLONGSWORT, B. R.: J. Mol. Biol. **1** 221 (1959).
TRAUT, B. R., MONRO, R. E.: J. Mol. Biol. **10,** 63 (1964).
TRUPIN, I. S., ROTTMAN, F. M., BRIMACOMBE, R. L. C., LEDER, P., BERNFIELD, M. R., NIRENBERG, M. W.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **53,** 807 (1965).
VOLKENSTEIN, M. V.: Nature **207,** 294 (1965).
VOLKIN, E., ASTRACHAN, L.: in The Chemical Basis of Heredity (W. D. MCELROY and GLASS eds) p. 686 Johns Hopkins Press Baltimore, Maryland (1957).

WAHABA, A. J., BAZILIO, C., SPEYER, J. F., LENGYEL, P., MILLER, R. S., OCHOA, S.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **48,** 1683 (1962).
WARNER, J. R., RICH, A.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **51,** 1134 (1964a).
WARNER, J. R., RICH, A.: J. Mol. Biol. **19,** 202 (1964b).
WARNER, J., RICH, A., HALL, C.: Science **138,** 1399 (1962).
WEIGHT, M. G., GARREN, A.: Nature **206,** 992 (1965).
WEISBLUM, B., BENZER, S., HOLLEY, R. W.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **48,** 1449 (1962).
WEISBLUM, B., GONAMO, F., EHRENSTEIN, G., BENZER, S.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **53,** 328 (1965).
WEINSTEIN, I. B., SCHECHTER, A. N., BURKA, E. R., MONKS, P. A.: Science **140,** 314 (1963).
WETTSTEIN, O. F., NOLL, H.: J. Mol. Biol. **11,** 35 (1965).
WILLIAMSON, A. R., SCHWEET, R.: Nature **206,** 29 (1965).
WOLFE, S. M., WEISBERGER, A. S.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **53,** 991 (1965).
ZABIN, I.: Cold. Spring Harbor Symp. QUANT. Biol. **28,** 431 (1963).
YAMANE, T., SUEOKA, N.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **51,** 1178 (1964).
YU, C. T., ZAMECNIK, P. C.: Biochim. Biophis. Acta **76,** 209 (1963).
YU, C. T., ZAMECNIK, P. C.: Science **144,** 856 (1964).

A MOLEKULÁRIS GENETIKA MÓDSZERTANI KÉRDÉSEIRŐL

SZENDE KÁLMÁN

MTA Genetikai Intézet, Budapest

A molekuláris genetika módszertani kérdéseiről egyetlen előadásban átfogó képet adni nem lehetséges. A kutatási terület kiterjedése, a társtudományok: biofizika, biokémia, fiziológia módszereinek fokozott alkalmazása a kutatásban nagymértékben megnehezíti egy átfogó ismertetésnek az összeállítását. Éppen ezért, a téma feldolgozásában szükséges volt megszorításokat alkalmazni: fel kellett tételezni egy alapfokú tájékozottságot egyrészt, másrészt pedig azt, hogy az elhangzó előadások maguk is megvilágítják témájukkal kapcsolatos módszertani kérdéseket.

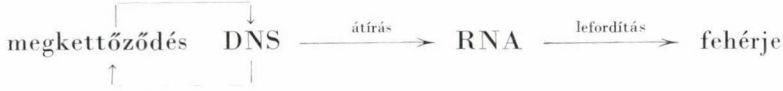
Ezenfelül — tekintettel arra, hogy a molekuláris genetika szilárdan támaszkodik a mikroszervezetek genetikája terén elért eredményekre és vizsgálati területe ma is elsősorban a mikroszervezetek genetikai kérdéseivel kapcsolatos — mindazokat a problémákat, melyeknek a megoldásához vezető kérdésfelvetés és technikai kivitelezés metodológiájáról beszámolunk, a mikroszervezetek, elsősorban a baktériumok és bakteriofágok genetikájának területéről választottuk ki.

Mindezeken kívül ennek a kérdésnek a feldolgozásában egy másik megszorítást is alkalmaztunk, mégpedig azt, hogy igyekeztünk a problémákat a biológiai szemlélet oldaláról megközelíteni és a kérdésfelvetés és technikai megoldások közül a biológiaiaknak adtunk elsőbbséget azért, hogy rámutassunk arra, hogy a biológiai módszerek alkalmazása is biztosít olyan lehetőséget a molekuláris szinten történő vizsgálatokban, ami a biofizikai és biokémiai megközelítésekkel összehasonlítva nem lebecsülendő.

Az elmondottakból tehát kitűnik, hogy a genetikai problémák molekuláris szinten történő megoldásához három módszertani megközelítés lehetséges: biológiai, biofizikai és biokémiai. Egyetlen probléma akár mind a három módszerrel is megközelíthető és egyáltalán nem ritka eset az, hogy legalább két társtudomány módszereinek együttes alkalmazása vezet a kívánt eredményhez.

A molekuláris genetikának egyetlen problémaköre az öröklődő információkat tároló anyagnak, a deoxi-ribonukleinsavnak (DNS) és organizáltabb alakjának, a kromoszómának szerkezete és működése. A DNS működése két irányú: önmagának lemintázásával a tárolt információknak generációról

generációra való átadása az egyik, a másik pedig az, hogy tárolt információkat különféle mechanizmusokon keresztül átírja és lefordítsa olyan fehérjékre, melyek a sejt működését és jellegeit meghatározzák. SPIEGELMAN és HAYAISHI (1963) szerint ez így történik:



Ez a séma vázlatosan bár, de mutatja a DNS működésének két fő irányát.

Az előbb említett megszorítások után két problémakört szeretnék módszertani nézőpontból részletesebben ismertetni. Ezek egyike a SPIEGELMAN-féle séma ciklikus részébe illeszthető, a másik pedig annak oldalágába. A két problémakör: 1. a baktérium kromoszóma lemintázódásának mechanizmusa, 2. a gének közti kölcsönhatások kérdése (komplementálás és szupresszió).

Az első tipikusan a DNS kettőződésével kapcsolatos probléma, a második pedig a funkcionális fehérjék kialakításában, azok szerkezete és működése meghatározásában a gének együttműködésének kérdéseit érinti.

A baktérium kromoszóma lemintázódásának mechanizmusa

A DNS WATSON—CRICK-féle molekuláris modellje szerint (WATSON és CRICK, 1953) a DNS molekula egy egymás köré csavarodó kettős hélix. A molekula cukor-foszforsav gerincén befelé fordulva helyezkednek el és kapcsolódnak a nitrogénbázisok, meghatározott szabályok szerint. Az egy-egy bázispár közti kapcsolatot hidrogénhidak biztosítják.

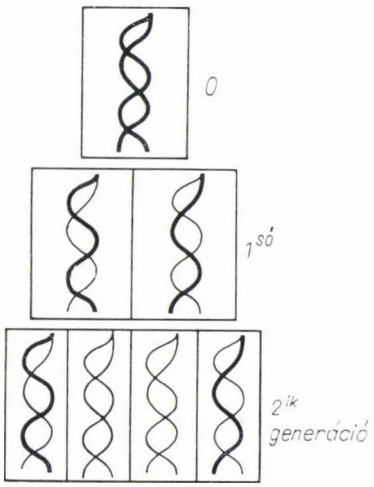
A WATSON—CRICK-féle modellből következik a molekula lemintázódásának módja (1. ábra). A modell szerint a megkettőződés egy ún. szemikonzervatív lemintázódási mechanizmus révén jön létre. Eszerint a mechanizmus szerint a lemintázódás közben a hidrogénhidak felszakadnak, a két DNS-fonal kicsavarodik egymásból és az elkülönült szülői fonalakra egy-egy új fonal szintetizálódik úgy, hogy mindig a megfelelő bázis párosodik a megfelelő bázissal (tehát adenin timinnel, guanin citozinnal). Ennek az újonnan szintetizálódó komplementer fonalnak a kialakulása egymás utáni sorrendben, folyamatosan következik be, a lemintázódás tehát sorrendiséget, szekvencialitást mutat. A szintézis a szülői DNS-fonal egy pontjáról indul el és meglehetős sebességgel halad végig a kromoszómát alkotó DNS-fonalon.

Mivel az újonnan kialakuló kettős hélix mindig egy szülői és egy komplementer rászintetizált fonalból áll, nevezzük ezt a folyamatot szemikonzervatív lemintázódási mechanizmusnak (2. ábra).

Ennek a mechanizmusnak fizikai módszerrel történő bizonyítását MESELSON és STAHL (1958) végezte el. A kísérlet lényegében a következő volt:



1. ábra. A DNS lemintázódás közben. WATSON—CRICK-féle molekuláris modell alapján ábrázolva



2. ábra. A DNS szemikonzervatív lemintázódásának mechanizmusa (MESELSON és STAHL alapján)

^{15}N-ben nevelt E. *coli* sejteket ^{14}N-be vive és ott tovább nevelve, időnként mintát vettek belőlük. A mintából a DNS-t kipreparálva vizsgálták annak ülepedését ultracentrifugában. A kapott adatok szerint a 0 generációban, tehát abban, melyben a DNS csak ^{15}N-t tartalmazott, egyetlen meghatározott UV abszorpciós sávot lehet megfigyelni. Az első generációban ehhez hasonlóan ugyancsak egy sáv alakul ki. Tekintettel arra, hogy ez hibrid sáv (^{15}N és ^{14}N-t egyaránt

tartalmaznak a bázisok), a gravitációs térben a kisebb fajsúlyú régió felé tolódik el. A második generáció DNS mintája már két abszorpciós sávot mutat, mégpedig egyet, mely az előző hibrid sáv helyzetének megfelelő régióban van és egy még kisebb fajsúlyú sávot, amely a teljesen újonnan szintetizálódott, csak ^{14}N-tartalmú DNS helyzetének felel meg. Ez a viselkedés a gravitációs térben arra mutat, hogy a WATSON—CRICK-modell szerinti szemikonzervatív lemintázódás az, amit a DNS megkettőződése mechanizmusaként elfogadhatunk.

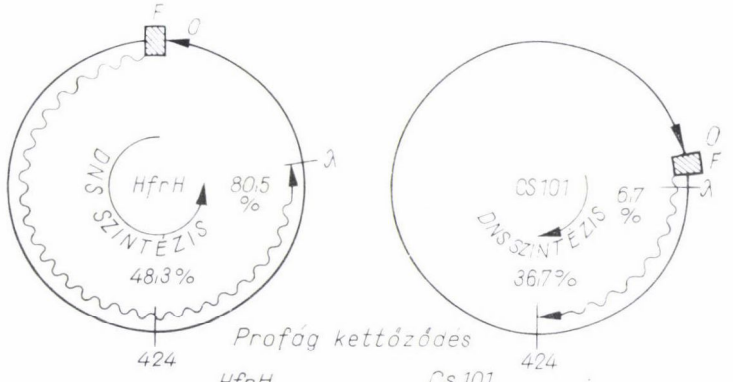
KLEINSCHMIDT (1961) *M. lysodeikticus* sejteket határhártyán óvatosan feltárva elektronmikroszkópos felvételekkel kimutatta azt, hogy a baktérium DNS a sejtből kitüremkedve egy rendkívül hosszú, hurkokat alkotó, de nem elágazó, szabad végződést alig mutató struktúra. Ennek alapján feltehető, hogy a baktérium kromoszóma egy ilyen, az átmérőjéhez viszonyítva rendkívül hosszú képződmény, mely a sejt belsejében egy szoros gomolyt alkot.

A baktérium kromoszómát alkotó DNS szintézise nem egyidejű, hanem kiterjed a baktérium sejtciklusának teljes szakaszára. (Sejtciklus alatt értendő a sejt életének az a szakasza, mely egyrészt a sejt osztódásával végződik, de ugyanekkor ezzel is kezdődik [PRESCOTT, 1964].) Ebből következik, hogy maga a baktérium kromoszóma lemintázódása is hasonló szabályszerűséget követ (SCHAECHTER, BENTZON, MAALØE, 1959; MCFALL és STENT, 1959; ABBO és PARDEE, 1960). Már 1961-ben MAALØE egy modellt javasolt, mely szerint a baktérium kromoszóma egy olyan folytonos struktúra, melynek lemintázódása követi a genetikai térképet. Mindig azonos pontnál indul el és a lemintázódás szekvenciálisan megy végbe. Ebből a modellből következik tehát, hogy a baktérium kromoszóma lemintázódása a sejtciklus adott időpontjában iniciálódik, egymást követően folyik le és — legalábbis bizonyos feltételek között — a teljes ciklus folyamán át tart.

Genetikai vizsgálatok (konjugáció) alapján ismert, hogy az *Escherichia coli* kromoszóma kör alakú és egyetlen kapcsolódási csoportot képez (JACOB és WOLLMAN, 1961). Az is ismeretes, hogy a gének a kromoszómán lineárisan helyezkednek el megfelelő sorrendben. Ez a sorrend meghatározott aszerint, hogy az alkalmazott donor (Hfr) törzs milyen. A konjugáció közben a kromoszóma átvitele polarizáltságot mutat, tehát egy adott ponttól — origo — elindulva a markerek átvitele sorrendben következik be. Az *E. coli* kromoszómának a befogadó (recipiens) F^- sejtbe történő ilyen polarizált és szekvenciális átvitele tette lehetővé az *E. coli* kromoszóma géntérképének megszerkesztését (JACOB és WOLLMAN, 1961).

NAGATA (1963) kiindulva a MAALØE-féle kromoszóma lemintázódási modellből, az *E. coli* kromoszómának replikálódását vette vizsgálat alá. Feltételezése az volt, hogy ha kromoszóma replikálódása szekvenciális sorrendű és egy bizonyos pontból indul el, akkor azokban a sejtekben, melyekben a kromoszóma replikálódása azonos stádiumban van, az azonos részek egy időben kettő-

ződnek. Két pontot vett fel az *E. coli* kromoszómán: egyrészt a lambda profág kapcsolódási helyét, és a 424 jelű profágét másrészt. Tekintettel arra, hogy a fágok episzómaként foghatók fel, integrálódva, profág állapotukban baktérium géneknek tekinthetők és ezekkel egyidejűleg replikálódnak. Indukálásuk után a profág abszolút száma baktériumonként, vagy pedig a két fág relatív száma a sejtciklus folyamán bármikor megállapítható és az abszolút szám megkettő-



	HfrH		Cs 101	
	424	λ	λ	424
DNS szint	48,3	80,5	6,7	36,7
Profág távolsága F-től percben	52,8	85,0	5,5	38,0

3. ábra. Az *E. coli* kromoszóma lemintázódásának polaritását és szekvencialitását bizonyító NAGATA-féle kísérlet

ződéséből, illetőleg a relatív számok megváltozásából következtetni lehet a gazda kromoszómája megfelelő helyének kettőződésére.

Ezekhez a vizsgálatokhoz szükség volt arra, hogy a sejtek az osztódás azonos állapotában legyenek, ezért a baktériumok a kísérlet előtt egy szűréses szinkronizálással úgy lettek kondicionálva, hogy a kromoszóma lemintázódása minden sejtben azonos állapotban volt. A vizsgálatokban többek között lényeges volt az is, hogy a kísérletekbe két különböző Hfr-törzs lett bevonva. Az egyik (HfrH) kromoszómáján a konjugációs kísérletekben megállapított génsorrend az óramutató járásával ellenkező az átvitel közben, míg a másik (CS 101) törzsnél ez az óramutató járásával megegyező. Az F faktor beépülésének helye és így a génátvitel sorrendje is különbözik tehát a két törzs között.

A két különféle donor-sejtben a lambda profág számának megkettőződése a DNS szintézisének más és más szakaszában következett be. Míg a HfrH-nál a lambda profág számának kettőződése a DNS szintézisének 80%-ánál jelentkezett, addig a CS 101-nél a DNS szintézisének kezdetén, tehát mintegy 7%-nál. Az F^- sejtekben a profág számának ilyen éles kettőződése nem volt megfigyelhető (3. ábra).

A két profág együttes indukciója esetén (UV) a fágnyeredékben a lambda/424 arány ugyancsak összefüggést mutat a DNS szintézisével. HfrH törzsnél ez az arány eleinte állandó, majd mintegy 50%-os DNS szintézisnél — a 424-es profág replikációjakor — hirtelen a felére zuhan. Ezt követően 80%-os DNS szintézisnél, tehát a lambda replikálódásának időpontjában, az arány ismét az eredeti szintjére emelkedett. CS 101 törzsnél ezzel szemben a lambda/424 arány mintegy 7%-os DNS szintézisnél kétszeresére emelkedett és 37%-os DNS szintézisnél — tehát a 424 profág kettőződésekor — eredeti szintjére csökkent.

Összegezve a kapott adatokat megállapítható, hogy a HfrH-nál és CS 101 törzsnél a kromoszóma lemintázódásának hulláma az F faktor beépülési helyéről indul el és ellentétes irányban haladva az origo felé tart. Pontosan ellenkezően, mint az a konjugációs kísérletek alapján várható. Összehasonlítva a konjugációs kísérletekben kapott F faktortól való távolságait a megfelelő profág kapcsolódási pontoknak (tehát a genetikai értelemben vett távolságokat) a DNS szintézis %-os értékeivel a szinkron lemintázódás folyamán, megállapítható, hogy az adatok meglepően jól fedik egymást. NAGATA vizsgálatai alapján tehát a baktérium kromoszóma *(E. coli)* lemintázódása egy pontból — az F-faktor kapcsolódási helyéből — indul el és az O felé halad, mely a konjugációs kísérletekben a kromoszómának azon pontja, mellyel a recipiens sejtbe való behatolást elkezdi.

A baktérium kromoszóma lemintázódási mechanizmusának megközelítésére egy másik, ugyancsak genetikai módszert dolgozott ki YOSHIKAWA és SUEOKA (1963). A kiindulási alap ez esetben is az volt, hogy a baktérium kromoszóma lemintázódása a kromoszóma egy pontjából indul el, folyamatosan végighalad azon, megközelítően azonos sebességgel és a kettős hélix mindkét fonala lemintázódik.

Egy exponenciálisan növekvő baktérium populációban a sejtek azon kromoszómáinak száma, melyek a lemintázódás kezdetén vannak, mintegy kétszerese azokénak, melyek ennek a folyamatnak vége felé tartanak. Ebből következik az, hogy azoknak a markereknek a száma, melyek a kromoszóma azon pontjánál vannak, hol lemintázódását elkezdi (origin), megközelítően kétszerese azokénak, melyek a másik végen (terminus) helyezkednek el. Egy marker gyakorisága függvénye a kromoszómán való elhelyezkedésének és a következő egyenlettel fejezhető ki:

$$g(X) = 2^{1-x}$$

melyben $g(X)$ a marker gyakoriság a kromoszómán való X helyzetének függvényében (tehát a marker gyakoriság $X = 0$-nál 2 és $X = 1$-nél 1). Az egyenlet nagyjából egy egyenest ad, 2,0 és 1,0 között.

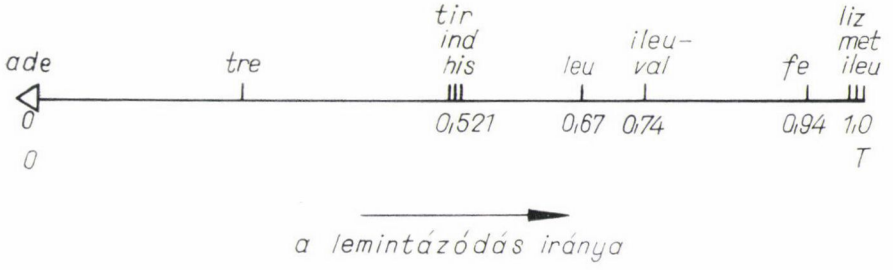
Ennek a bizonyítására a *B. subtilis* genetikai transzformációs rendszerét használták fel. Donorként a *B. subtilis* W23 törzs szolgált. Egy exponenciálisan

növekvő populációból különböző időben DNS mintákat preparálva és a többszörösen auxotrof 168 jelű törzset transzformálva vizsgálták a transzformált markerek gyakoriságát. Tekintettel arra, hogy az egyes markerek integrálódásának gyakorisága más és más, szükség volt egy olyan kontroll állapotra, melyben a markerek gyakorisága azonos. Ez az állapot a növekedés stacioner fázisában következik be. Ha a stacioner állapotban levő marker gyakoriságokat egymással összehasonlították, úgy minden marker gyakorisága 1 volt. A kísérletben szükséges volt az egyes markerek transzformációs gyakoriságát a methionin marker transzformációs gyakoriságára vonatkoztatni és ezeket vonatkoztatták ismét a stacioner fázisban levő kultúra transzformációs gyakoriságaira. A kísérleti adatok alapján a következő marker gyakoriságokat állapították meg:

	Exponenciális	Stacioner	Éjszakán át növekedett
ade/met	1,96	1,40	1,05
tre/met	1,74		
his/met	1,55		1,05
leu/met	1,37	1,03	1,05
ileu/met	1,04		

ade = adenin; tre = treonin; his = hisztidin; leu = leucin; ileu = izoleucin; met = metionin.

Az exponenciális fázisban mutatkozó marker gyakoriságok alapján a 4. ábrán feltüntetett marker sorrend állapítható meg.



4. ábra. A *B. subtilis* géntérképe Yoshikawa és Sueoka (1963) vizsgálatai alapján

Tehát a transzformációs kísérletből nyert marker megoszlás alapján egyrészt megállapítható volt a gének sorrendje és elhelyezkedése a kromoszómán, másrészt pedig az, amit már Nagata (1963) is kimutatott az *E. coli* kromoszómán: a lemintázódás polarizáltsága és szekvencialitása. Van tehát a *B. subtilis* kromoszómán is egy pont, az adenin marker előtt, hol a kromo-

szóma lemintázódása iniciálódik, majd szekvenciálisan végighalad a kromoszómán.

A baktérium kromoszóma lemintázódása mechanizmusának megközelítésére ismertetett két módszer teljesen genetikai. A különbség közöttük az, hogy míg az egyik a sejtek közül azokat válogatja ki, melyek az osztódás és a DNS szintézisének azonos állapotában vannak, addig a másik egy egyenletes megoszlású populáció növekedésének két különböző állapotában hasonlítja össze a sejteket.

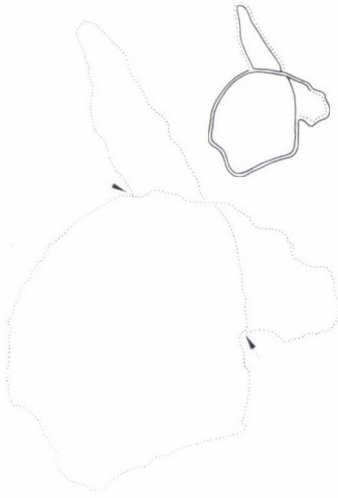
Közvetett módon bár, de a baktérium kromoszóma lemintázódásának polarizáltságát és szekvencialitását bizonyítják azok a kísérletek, melyeket RYAN és CETRULO (1963) végzett az elektív mutagenezis lehetőségeinek kimutatására. Kiindulva abból a feltételből, hogy az *E. coli* kromoszóma NAGATA kísérleteinek megfelelően mintázódik, egy mutagén (2-amino-purin) rövid ideig tartó alkalmazása esetén a mutációk indukciója a kromoszóma ezalatt replikálódó szakaszán mutatható csak ki. A kapott eredmények az elképzelésnek megfelelően további bizonyítékát adták a baktérium kromoszóma eddig ismertetett lemintázódási mechanizmusának.

Egy időben ezekkel a biológiai vizsgálatokkal, biofizikai módszerek alkalmazásával is sikerült bizonyítékát adni annak, hogy a baktérium kromoszóma lemintázódására a MAALØE-féle modell megfelelő.

BONHOEFFER és GIERER (1963) abból indultak ki, hogy a DNS fajsúlyának diszkontinuus megoszlása a MESELSON—STAHL-kísérletben csak akkor mutatkozik, ha a sejtek a nehéz izotópban hosszú ideig nevelkedtek és az izolált DNS molekula súlya kicsiny. Ha azonban a nehéz közegben a DNS szintézise csak rövidebb szakaszokban, ún. pulse-okban következik be, úgy a nehéz DNS molekula részek a kromoszómának csak azon részében találhatók meg, melyek ez alatt az idő alatt mintázódtak. Ezekben a kísérletekben az újonnan szintetizált kromoszóma jelzésére ^{14}C jelzett timin analóg az 5-bróm-uracil (5-BU) szolgált. Ez egyrészt radioaktívvá, másrészt nehezebbé tette a replikálódott részt. Kontrollként egyrészt ^{3}H-timin, illetőleg ^{3}H-thimin—5-BU hibrid DNS molekula szolgált. A vizsgált DNS molekula súlya a MESELSON—STAHL-kísérletben alkalmazottnál nagyobb, 40×10^6 volt. A CsCl-ban történt centrifugálásnál a DNS molekulák fajsúly maximuma a 5-BU expozíció időtartamától függően timin, illetőleg a timin-5BU hibrid kontrollok között helyezkedett el. Rövid expozíciónál a maximum a timinnel jelzett DNS kontroll közelében, hosszabb expozíció után pedig a hibrid DNS kontroll közelében. Közepes ideig tartó expozíció esetén pedig a két kontroll között volt a fajsúly megoszlási maximum. Az izolált DNS molekulasúlyból és az újonnan szintetizált DNS fajsúlyának megoszlásából kiszámítható annak a szintetizált DNS résznek a hosszúsága, mely a pulse alatt szintetizálódott. Ebből, az expozíció hosszából és a baktériumsejt „nukleuszainak" számából kiszámítható a kromoszóma növekedési sebessége. Ez a kísérletben az 5-BU

beépülés feltételei között 2×10^2 nukleotid/sec volt, míg a normális tenyészkörülmények között 5×10^3 nukleotid/sec/baktérium. Ezen számítások alapján a lemintázódás sebessége feltehetően az egész sejtciklus folyamán állandó és ez kizárja annak lehetőségét, hogy a kromoszóma lemintázódása több ponton iniciálódik.

CAIRNS (1963, 1963b) autoradiográfiás módszert alkalmazott az *E. coli* kromoszóma lemintázódása mechanizmusának kimutatására. A timin igényes sejteket ^{3}H-timidint tartalmazó közegben nevelte különböző ideig, majd a sejteket leszűrve feltárásukat és DNS-uk preparálását a szűrő felületén



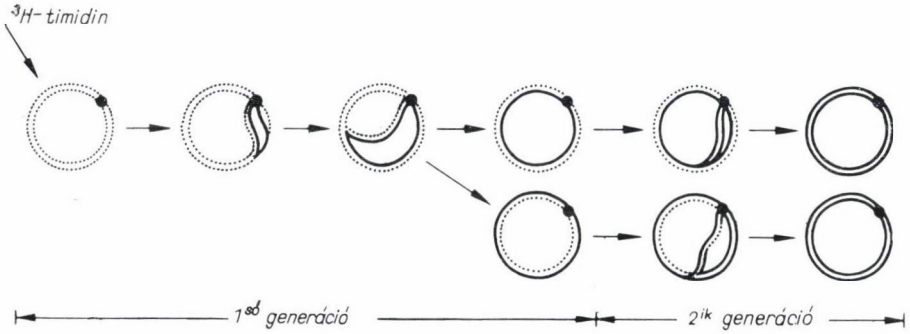
5. ábra. ^{3}H–timidinnel jelölt *E. coli* kromoszóma lemintázódása közben, CAIRNS-alapján. Az ábra jobb felső sarkában a lemintázódó kromoszóma vázlatosan ábrázolva

végezte el. A szűrőkön levő DNS a baktérium kromoszómának megfelelően egyhelyben megtapadt a szűrő felületén. Ezután a szűrőket több hónapon át fényérzékeny anyagon tartva és ott exponálva a felvétel kidolgozható volt (5. ábra).

Mik állapíthatók meg CAIRNS vizsgálati eredményeiből? Először az, hogy az *E. coli* kromoszóma egyetlen összefüggő szerkezetet mutat, feltehetően egyetlen egy DNS molekula, melynek hosszúsága megközelíti az 1 mm-t. A másik pedig az, hogy a kromoszóma egy kört alkot és ez a kör lemintázódása közben nem nyílik fel, hanem villát képez és így kettőződik. Az, hogy a kör alakú kromoszóma nem nyílik fel, szükségessé tette egy csukló (swivel point) feltételezését, mely körül a kromoszóma két DNS fonala forogni képes szétnyílása közben, miközben az új komplementer fonalak a szülői fonalakra rászintetizálódnak. A CAIRNS-féle modell szerint a baktérium kromoszóma lemintázódósása tehát egy pontnál, a csuklónál iniciálódik, villa, helyesebben hurok képződése közben. Ahogy a növekedési pont szekvenciálisan végighalad

a kromoszómán, a hurok egyre bővül és a végén a csuklót elérve, a két teljes kromoszóma kialakul (6. ábra).

A négy különböző kísérleti megközelítés nagymértékben megerősítette azt a modellt, melyet MAALØE javasolt, tehát azt, hogy a kromoszóma lemintázódása szekvenciális egyrészt, másrészt pedig azt, hogy a kromoszóma ezen lemintázódása egyetlen meghatározott pontból indul el. Ez a pont, az iniciálódás helye, NAGATA kísérleteinél az F-faktor beépülésének helye, YOSHIKAWA és SUEOKÁnál az adenin marker helyének közelében levő replikációs origin, CAIRNSnél pedig a hipotetikus csukló, mely a DNS fonal pörgését lehetővé



6. ábra. Az *E. coli* kromoszóma lemintázódásának CAIRNS-féle szkémája

teszi. Erre a pontra, helyesebben kromoszóma részre már LARK és munkatársai (1963) is felhívták a figyelmet azokkal a kísérleteikkel, melyekben aminosav éheztetés hatását vizsgálták az *E. coli* DNS szintézisére.

Természetesen nem lenne teljes a baktérium kromoszóma lemintázódásáról alkotott képünk, ha azt újabb adatokkal ki nem egészítenénk. Ezek a vizsgálatok azonban elsősorban a kromoszóma lemintázódásának iniciálódásával foglalkoznak.

Már PRITCHARD és LARK (1964) megfigyelte, hogy timinigényes sejtek kromoszómája timin éheztetéskor egy új lemintázódási ciklust kezd el, annak ellenére, hogy az előző mintázódás még nem fejeződött be. Ez arra mutat, hogy a timin hiánya interferál a DNS szintézist reguláló rendszerrel. A vizsgálatok BARNER és COHEN (1956) megfigyelésén alapultak, mely szerint a timin éheztetés hatására fokozódik a sejt DNS-szintézisének sebessége. A kísérletek szerint timin éheztetés után a timin ismételt adása olyan lemintázódást idéz elő, mely már három pontból indul el (7. ábra).

Ilyen korai lemintázódás-iniciálódást OISHI és munkatársai (1964) is kimutattak. LARK és LARK (1964) szerint a kromoszóma lemintázódása iniciálásában két különböző mechanizmus működik és mind a kettő aminosavigényes. Egyik mechanizmus az aminosav éheztetés után bekövetkező iniciálásban vesz részt, a másik ezzel szemben a timin éheztetés utáni korai iniciálásban. Ez

utóbbi fluor-uracil és kloramfenikol érzékeny, előbbi nem. Ebből arra lehet következtetni, hogy az iniciálásban két fehérje vesz részt: egy struktúr fehérje és egy iniciátor fehérje. Ez utóbbi lemintázódáskor végighalad a kromoszómán a növekedési ponton. A struktúrfehérje szintézisének fluor-uracil és kloramfenikol rezisztenciája arra mutat, hogy ez valamilyen kapcsolatban lehet a sejtfallal, esetleg a sejtfal muko-poliszaccharid rétegével, mely aminosavakat tartalmaz és szintézise kloramfenikol rezisztens. Ez a feltételezés kapcsolatos JACOB és munkatársai (1963) hipotézisével, mely szerint a sejtfalnak szerepe van a kromoszóma lemintázódásának iniciálásában. JACOB és munkatársai feltételezik, hogy a baktérium kromoszóma lemintázódásának iniciálásában a fehérjeszintézis regulációs egységéhez, az operonhoz hasonló regulációs mecha-



7. ábra. Az *E. coli* kromoszóma lemintázódásának timin éheztetés hatására indukálódott korai iniciálása

nizmus, a „replikon" működik. Ennek legegyszerűbb modelljében egy struktur gén termelte diffúz anyag az iniciátor a citoplazmán keresztül hat a kromoszóma egy lokuszára, a replikátorra.

Hogy mi a replikátor, helyesebben mi a szerkezete és hogyan működik, azt ma még nem ismerjük. NAGATA (1963) szerint ez maga az integrálódott F-faktor. Ez azonban ellentétben áll JACOB és munkatársai modelljével, melynél a replikátor a kromoszóma egyetlen és állandó helye. Egyébként ennek a replikátornak kettős működése van: egyrészt ebből iniciálódik a kromoszóma lemintázódása, másrészt, de ezzel egyidejűleg csuklóként (swivel) is működik.

A gének együttműködései. Komplementálás, szupresszió és a gén-géntermék kolineritása

A kromoszóma, ill. DNS által tartalmazott információknak átírására és lefordítására vonatkozóan megfelelő ismeretekkel rendelkezünk. Eszerint az operon (a reguláció genetikai egysége) struktur génjein policisztronos küldönc RNS szintetizálódik. Ez komplementer a kódot tartalmazó DNS kettős hélix, ún. „messenger-fonalával". Ezen a küldönc RNS-en gördülnek végig a riboszómák (poliszóma) és ezeken történik a transzfer RNS-en kapcsolódott aktivált aminosavaknak a polipeptid lánccá történő összeszerelése.

Ebből a modellből következik, hogy a résztvevő három makromolekula: a DNS, a küldönc RNS (mRNS) és a képződött polipeptid lánc lineáris és replikálódásukban, illetőleg szintézisük folyamatában szekvencialitás van. Ha ez

igaz, akkor az egymásnak megfelelő alegységek sorrendje is megfelel egymásnak, tehát a három molekula *kolineáris*. Ennek az elvnek alapján valahol a DNS kettős hélixben történt megváltozás az aminosav szekvenciában szubsztituciót hozhat létre, vagy ez a megváltozás amint később látni fogjuk, a polipeptid lánc további kialakulását leállíthatja. A DNS szerkezete és a géntermék szerkezete közötti kolinearitás vizsgálatára jól bevált biológiai módszerek állnak rendelkezésünkre, s ezek egyike a komplementációs teszt.

Maga az elnevezés arra mutat, hogy két különböző helyen mutált kromoszóma egyazon sejt citoplazmájában képes egymás defektusát kompenzálni úgy, hogy a két mutált kromoszómát tartalmazó sejt működése helyreáll és normálissá válik. A tesztnek lényege az, hogy a két defektes kromoszómát egyazon sejtbe kell bejuttatni. Ez természetesen szervezetenként más és más módon történik.

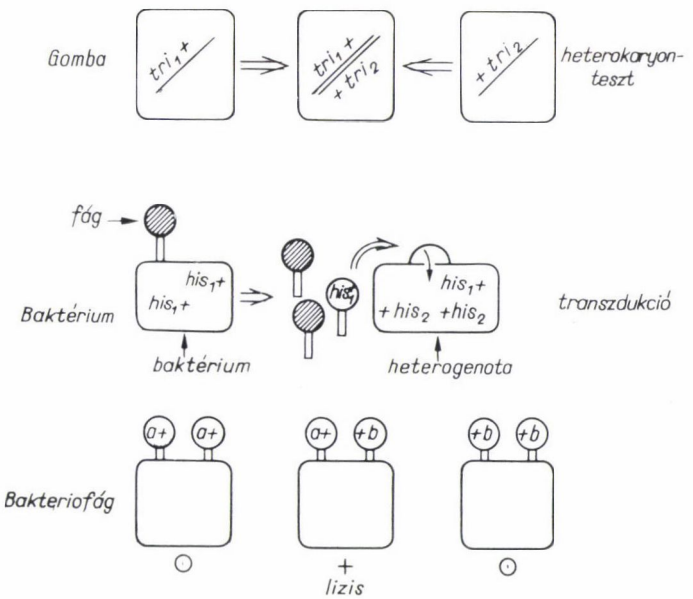
*Neurospora*nál pl. a heterokaryon teszt használatos. Két azonos párosodási típusú, de eltérő genomú sejtmagokat tartalmazó hifa fúzióra képes. Fúzió közben az eltérő jellegű sejtmagok nem egyesülnek, csak keverednek a közös citoplazmában. Az esetben, ha a sejtmagokban a defektusok más-más allélt érintenek, vagy allélen belül, de különböző cisztronban helyezkednek el, a mutált szituszon a közös citoplazmában, egymást kiegyenlítik és a fehérje (enzim) szintézise helyreállítható. (L. 8. ábra felső sorát.) A komplementáció tehát nem jelent magfúziót és genetikai rekombinálódást sem.

Baktériumoknál ez a funkcionális elemzés szex-dukció révén oldható meg egyrészt, másrészt pedig az ún. abortiv transzdukcióval (l. 8. ábra középső sora).

Szex-dukcióhoz F' törzsek használatosak. Ezek a kromoszóma egy kisebb töredékét a megfelelő génekkel az episzómán hordozzák. Ez az F' párosítás után képes az episzómát egy F⁻ törzsbe átadni. Így az F⁻ F'-é alakul, mely heterogenota oly értelemben, hogy tartalmazza egyrészt a donor F' sejtnek episzómás génjét (illetőleg markerét), másrészt a recipiens F⁻ törzs kromoszómás alléljét is. Ha két gén vagy marker egymást komplementálni képes, úgy a heterogenota vad típusú lesz (Hirota és Sneath, 1961).

A másik, a baktériumokra alkalmazható módszer az abortív transzdukció (Stocker, 1956; Ozeki, 1956). Ez lényegileg egy közönséges transzdukció, eredményeiben azonban ettől eltér. Míg a transzdukciónál ugyanis egy klón képződik a transzdukált sejtből, addig az abortiv transzdukciónál csak „vonal". Előbbi tehát számában exponenciálisan növekszik, utóbbi azonban csak aritmetikusan. Az abortiv transzdukció eredményeként kialakuló mikrotelepek a preparáló mikroszkóp alatt jól felismerhetők. Az ilyen abortív transzdukció eredménye tehát nem genetikai rekombinálódás, hanem a citoplazmában a géntermékek kapcsolatának lehetősége. Szemben a „komplett" transzdukcióval, mely a genetikai kapcsolatokra utal, ez a vizsgálati módszer a funkcionális kapcsolatok kiderítésére alkalmas.

Bakteriofágoknál a módszer ismét más (l. 8. ábra alsó sor). Még 1956-ban BENZER ismertette a cisz-transz tesztjét, mely lehetővé tette a T4 fág rII mutánsainak funkcionális egységekbe történő csoportosítását. A cisz-transz teszt lényegileg a baktérium sejt kevert fertőzése. A mutánsok külön-külön a gazdabaktériumban nem képesek elszaporodni. Az esetben azonban, ha a mutált kromoszóma részek nem azonos funkcionális egységbe tartoznak, úgy



8. ábra. Komplementációs tesztek vázlatos ábrázolása különféle mikroszervezeteknél

igen. A cisz-tesztnél mind a két defektus egy kromoszómán van és a komplementáló kromoszóma a normális, vad allélekkel rendelkezik. Transz-tesztnél a defektusok külön-külön kromoszómán helyezkednek el. A baktérium lizise az esetben következik be, ha a két defektus eltérő funkcionális egységekben helyezkedik el, tehát különböző cisztronokban van. A gyakorlati komplementációs vizsgálatokban általában a transz-teszt a használatos. A cisz-teszt előzetes keresztezést igényel és inkább csak a transz-teszt megerősítésére szolgál.

Mi a kromoszómás magyarázata a komplementálásnak, illetőleg a cisztransz tesztnek? Két lehetőséggel kell számolnunk: egyik lehetőség az, ha a kromoszóma defektusa (bázispár kicserélődés, deléció) egyazon funkcionális egységben helyezkedik el pl. A génben vagy az egyik defektus az A génben, a másik pedig egy másik génben, a B génben lokalizálható. Ismét további lehetőség az, ha a defektus egyazon kromoszómán van — cisz helyzet — vagy pedig külön-külön más-más kromoszómán helyezkednek el — transz helyzet.

(Ne feledjük, hogy haploid szervezetekről van szó, illetőleg, mint pl. a *Neurospora* vagy élesztőgombák esetében azok életciklusában a haploid fázisról.)

Az említett lehetőségek alapján négy különféle kombináció van:

1. A két defektus az A génben és cisz helyzetben van. Ez esetben a komplementációs teszt eredménye vad fenotípus lesz, mert csak az egyik kromoszóma A génjének leírása gátolt és a másik kromoszóma, illetőleg a B gén a megfelelő funkcionális polipeptid kialakításához szükséges üzenetet továbbítja.

2. A két mutáció cisz helyzetben van, de az egyik az A, másik a B génben. A fenotípus ismét vad lesz, mert a nem mutált kromoszóma által küldött üzenet mind a két génnek megfelelő polipeptid lánc kialakulását lehetővé teszi.

3. A két mutáns az A génben lokalizált, de transz helyzetben van. Ilyenkor az A génnek megfelelő polipeptid lánc nem szintetizálódik, csupán a B génnek megfelelő. Az eredmény tehát *mutáns fenotípus* lesz.

4. Ez esetben az egyik defektus A-ban, másik B-ben és transz helyzetben van. Ilyen körülmények között a funkcionális polipeptid lánc kialakításában mindkét kromoszóma ép génje vesz részt. A komplementáció következtében tehát a sejt fenotípusa vad lesz.

A cisz-teszt esetében amint láthattuk, a fenotípus nem teszi lehetővé a mutáció funkcionális egységeiként való szétválasztását. Ezzel szemben a transz-tesz igen és a funkcionális elkülönítésre jól felhasználható (HARTMAN és SUSKIND, 1965).

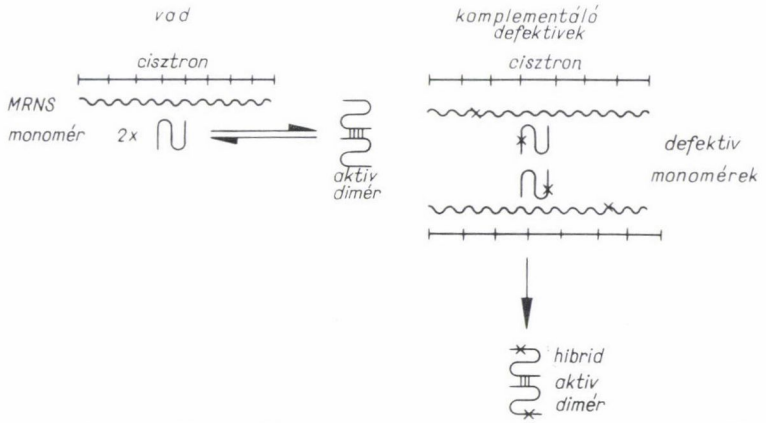
Eszerint komplementálásról abban az esetben beszélünk, ha egy komplementációs tesztben két mutált kromoszóma transzkonfigurációban egymás mellé kerülve vad fenotípust ad. Az így elkülönített csoportok BENZER szerint (1956) a kromoszóma funkcionális egységeiként foghatók fel. Ez valóban így van, mert a legleegyszerűsítettebb esetben az A génben levő mutációt a B génben levő mutáció komplementálja, ezzel szemben egymás között, ha az A génben, illetőleg a B génben együttesen helyezkednek el, a két mutáció nem komplementálódik.

Ezzel a módszerrel, a genetikai rekombinációs vizsgálatokkal párhuzamosan, ki lehetett mutatni azt, hogy pl. a *Neurosporá*nál a triptofán szintézisében az egyes szintézises lépésekben gátolt mutánsok egymást komplementálni képesek. Egy másik igen alaposan elemzett rendszer, a *Salmonella* hisztidin operon vizsgálata révén a gének 15 cisztronba voltak sorolhatók. Ezek között vannak olyanok, melyek többed magukkal együtt határoznak meg egy enzimet (HARTMAN, 1960; AMES és HARTMAN, 1962).

Természetesen a természet ilyen merev meghatározásokat nem tűr meg. Nagyon sok kivétellel találkoztak már a kutatások korai szakaszában és ezek a kivételek azt mutatták, hogy a klasszikus cisztron fogalom is a funkcionális csoportosítást illetően tovább bontható. Igen gyakran megfigyelték azt, hogy két mutáns, mely egymást komplementálta, egy harmadikkal nem adott

komplementációs reakciót. Tehát az intergénes komplementálás mellett intragénes, allélek közötti (interalléles) komplementálás is ismeretes. Ennek az intragénes komplementálásnak a vizsgálata ad betekintést tulajdonképpen a komplementáció jelenségének molekuláris mechanizmusába.

Az, hogy két alléles mutáns komplementációja rekombináció eredménye lenne, kizárja a tesztnek azon feltétele, hogy nem a heterozigoták képezik a vizsgálat tárgyát, hanem heterokaryonokat, heterogenotákat tanulmányoznak. Fágoknál pedig a fágok szaporodása a kevert fertőzés után olyan feltételek



9. ábra. A komplementálódás molekuláris mechanizmusának magyarázata. (Kivonatosan Hartman és Suskind után)

között megy végbe, mely a rekombinálódást eleve kizárja. Ezek szerint a kromoszómás szint, mint a komplementálódás oka, kikapcsolható és fel kell tételezni azt, hogy a két mutált gén egymást termékeik révén kompenzálja. A géntermékek ilyen együtthatása két szinten képzelhető el: egyrészt olyan templátok képződhetnek az egymásrahatás következtében, melyen a funkcionális polipeptid lánc kialakulhat, másrészt fennáll annak lehetősége, hogy a kész polipeptid láncok — monomerek — multimerekké történő aggregálódásakor következik be a komplementáció. Mindegyik esetben a két különféle termék (RNS vagy fehérje) kooperációjáról van szó.

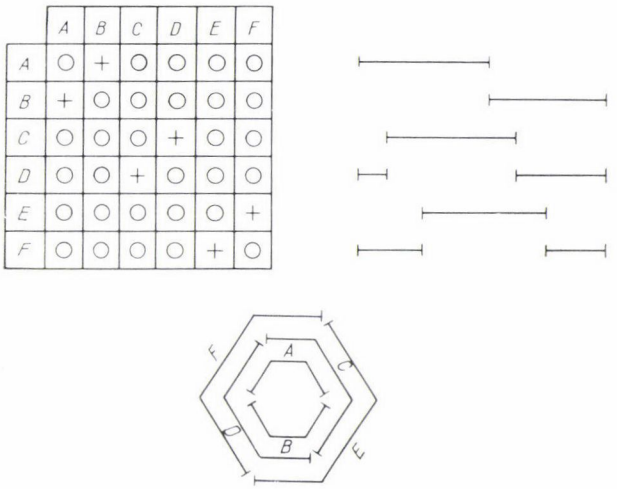
Nem minden intragénes mutáció képes egymást komplementálni. Ez tehát kizárja annak a lehetőségét, hogy a két defektes géntermék (RNS vagy polipeptid lánc) valamiféle rekombinálódás révén kompenzálja egymást. Az a jelenség pedig, hogy csak egyes esetekben van intragénes komplementálás, más esetekben viszont nincs, arra mutat, hogy ilyen komplementálás csak akkor mutatható ki, ha a vizsgált végső géntermékek (enzimek) két vagy több homológ monomernek aggregátumai (Chatcheside, 1964). Ennek az aggregálódásnak a komplementálódásban való szerepére utal a 9. ábra. A vad típusú markereket tartalmazó cisztron azonos monomereket informál és ezek külön-

külön nem, aggregálódva azonban funkcionálisak. Komplementálás esetében két alléles defektussal bíró mutáns gén két olyan defektív monomert képes termelni a közös citoplazmában, melyeknek defektusa különböző helyen van. Ez a két különböző helyen defektív monomer aggregálódik azután egy olyan dimerré, mely valamelyes funkcióval már rendelkezik (HARTMAN és SUSKIND, 1965). Ezekből következik, hogy komplementáció csak az esetben következik be, ha a két képződött monomer bár defektes, de teljes. Nagyobb deléciók a kromoszómán hiányos polipeptid láncot eredményeznek és azok a mutációk, amelyek téves polipeptid láncvégződési utasítást adnak (értelmetlen = nonsense mutációk) (BENZER és CHAMPE, 1962; GAREN és SIDDIQUI, 1962) ugyancsak nem komplementálnak (EDGAR és EPSTEIN, 1964).

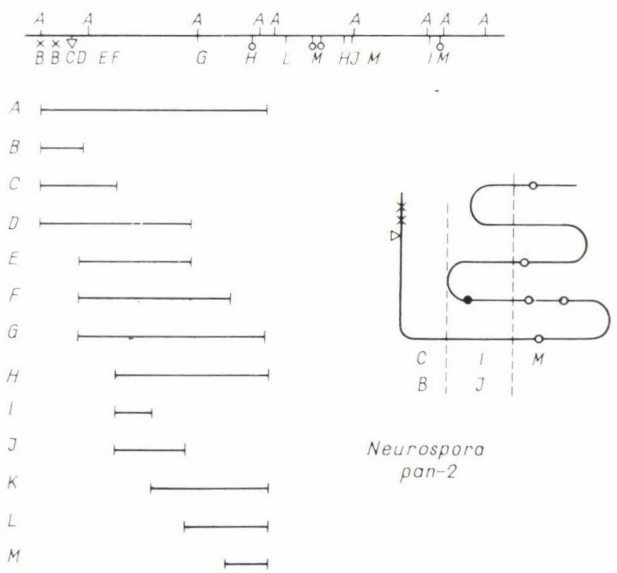
KAPULER és BERNSTEIN (1963) egy japán szerző által közölt adatok felhasználásával a *Neurospora ade-8* génre vonatkozó molekuláris modellt szerkesztettek. Összehasonlítva a genetikai térképet a komplementációs térképpel azt találták, hogy a kör alakú komplementációs térképpel a géntérkép összevetve, egy spirál alakot vesz fel. Eszerint a modell szerint az egyes monomerek két hurokkal bíró spirált alkotnak és aggregálódásnál a spirálok egymásra rétegződnek. Az esetben, ha a komplementációs tesztben olyan polipeptid spirálok rétegződnek egymásra, melyek szférikusan átfedik egymás defektusát, komplementációt nem kapunk. Az esetben azonban, ha szférikus átfedés nincs, úgy a komplementálás bekövetkezik és az aggregálódott dimer funkcionális.

Ezzel a molekuláris modellel szemben általánosabban elfogadottabb molekuláris magyarázatot ad CRICK és ORGEL (1964). Szerintük ha a két defektus valamilyen rekombináció révén lokálisan és kölcsönösen kiegészítené egymást, a komplementációs térképnek minden esetben kör alakúnak kell lennie. A komplementációnak az alapja inkább az, hogy az ún. téves harmadlagos szerkezettel rendelkező monomert a másik monomer „jó" része kiigazítja, tehát mint CRICK és ORGEL írja, „nem két feketéből lesz egy fehér, hanem egy jó kiigazítja a rosszat".

A komplementációs tesztek eredményei alapján a mutánsok komplementációs csoportokba sorolhatók, ezekből pedig megalkothatók a komplementációs térképek. Ezek vagy lineárisan vagy cirkulárisan egymás fölött, vagy egymás körül elhelyezkedő vonalak. Ha egymást fedik, az arra mutat, hogy egymás között nem adnak komplementációs reakciót. A 10. ábrán egy hipotetikus komplementációs matrix látható, melynek alapján a lineáris térkép megszerkeszthető. Bizonyos esetekben azonban a lineáris térkép nem elegendő, és kétdimenziós, cirkuláris térképek szükségesek az ábrázoláshoz. Így pl. a *Salmonella* hisztidin operonjának B génje cirkuláris térképet mutat (LOPER és mások, 1964), a *Neurospora* arginin, hisztidin stb. génjeinek komplementációs térképei lineárisak. Ezzel szemben pl. ugyanennek a mikroszervezetnek az *ade-8* génjéé cirkuláris (KAPULER és BERNSTEIN, 1963).



10. ábra. Elméleti komplementációs matrix, továbbá lineáris és cirkuláris komplementációs térkép (CATCHESIDE után)



11. ábra. A *Neurospora pan-2* génjének komplementációs és géntérképe és a kettő egybevetéséből eredő többdimenziós géntérkép

Ha a géntérképet a komplementációs térképpel összehasonlítjuk, akkor ezeket olykor kolineárisaknak találjuk, olykor azonban nem. A 11. ábra a *Neurospora pan-2* komplementációs térképét és a nem-kolineáris többszörösen

hajlított géntérképét ábrázolja. A komplementációs térkép jobb szélén levő M komplementációs csoport mutánsai a géntérkép közepétől több elkülönült csoportban helyezkednek el a jobb oldalon. Közéjük ékelődnek az I és J komplementációs csoport mutánsai. Tehát a mutációk helyeinek sorrendje MJMIM. Ilyenkor a komplementáló rész több, esetleg három szegmentből tevődik össze (CATCHESIDE, 1954). Ez feltehetően a fehérjemolekula harmadlagos szerkezetére vezethető vissza. A fehérjemolekulák ilyen multimer (polimer) szerkezetére vonatkozóan HARTMAN és SUSKIND (1965) érdekes fejtegetést közöl. Eszerint a DNS információ tartalmának kisebb része szükséges csak a monomerek kialakulásához. Az ilyen alegységek szintézise tehát evolúciós előnyökkel bír. Másrészt a monomer → polimer asszociációk, melyek a környezeti hatásokra érzékenyek, bizonyos regulációs mechanizmust jelentenek és ennek az egyed fejlődése során van jelentősége.

Az *in vivo* genetikai és komplementálási vizsgálatok a fehérje kémiai kutatások eredményeivel együtt nagymértékben hozzájárultak ahhoz a molekuláris képhez, melynek alapján a gének együttműködéseinek hatásmechanizmusa magyarázható. Ezeket az eredményeket az *in vitro* komplementációs vizsgálatok is megerősítették. LOPER (1961) a *Salmonella* hisztidin operonja terminális reakcióit meghatározó géneket vizsgálta olyan feltételek között, melyekben az enzimek derepresszált állapotban voltak. Ezek a terminális reakciók a következők:

Gén

his B $\quad IGP \xrightarrow{\text{IGP dehidráz}} IAP + H_2O$ 1.

his C $\quad IAP + \text{l-glutaminsav} \xrightarrow{\text{IAP transzaminász}} HLP + \text{alfa-keto-glutársav}$ 2.

$\quad HLP + H_2O \xrightarrow{\text{HLP foszfatáz}} \text{hisztidinol} + PO_4$ 3.

his D $\quad \text{hisztidinol} + 2\ DPN + H_2O \xrightarrow{\text{hisztidinol dehidrogenáz}} \text{hisztidin} + 2\ DPNH + 2\ H^+$ 4.

Rövidítések: IGP = imidazol-glicero-foszfát; IAP = imidazol-acetil-foszfát; HLP = = hisztidinol-foszfát; DPN = difoszfo-piridin-nukleotid.

A his B génnek kettős működése van: egyrészt meghatározza az 1., másrészt a 3. reakciót. Ennél a génnél négy komplementációs alegységet B_a, B_b, B_c és B_d alegységeket mutattak ki. A B gén mutánsai feltárt sejtjeinek extraktját IGP dehidráz és HLP foszfatáz aktivitásra vizsgálva, IGP dehidrázra nézve egyik alcsoport sem mutatott aktivitást. Ezen felül a B_c alegység mutánsainak extraktjában HLP foszfatáz aktivitás sem volt kimutatható. A vizsgálatok szerint a B_c alegységbe tartozó mutánsok kivonata a másik három közül bármelyikkel keverve megemelte a HLP foszfatáz aktivitást. Ehhez hasonlóan a B_{ax} ; B_{axd} és B_{cxd} keverékekben az IGP dehidráz aktivitás is megnövekedett a kontrollal szemben. Feltehető, hogy a kivonatokban jelentkező *in vitro*

komplementáció a komplementálás már ismertetett molekuláris modelljén alapul. Hasonló *in vitro* komplementálásokat a *Neurospora* glutaminsav dehidrogenáz és az *E. coli* alkáli foszfatázaival is végeztek (FINCHAM és CODDINGTON, 1963; SCHLESINGER és mások 1963).

A komplementáció jelensége mellett ismertetni szeretném még röviden a szupresszor mutációkat is, melyek egyrészt a gének egymásrahatásának molekuláris mechanizmusába, másrészt a gén-géntermék kolinearitása kérdésébe enged betekintést.

Szupresszor mutáció alatt egy olyan mutációt értünk, mely működésével egy más helyen bekövetkezett mutáció fenotípusát a vad fenotípus irányába megváltoztatja. Tehát pl. egy auxotróf mutáns fenotípusa a szupresszor hatására ismét prototróffá alakul. Ezeknek a szupresszor mutánsoknak részletes ismertetése túlmenne azon a határon, melyet ennek az előadásnak keretei megszabnak.

A szupresszor mutációk CAMPBELL (1963) után két csoportba sorolhatók. Cisztronon belüli és cisztronok közötti szupresszorok csoportjába. Előbbiek közé sorolhatók a leolvasás keretének eltolódásában (reading frame shift) jelentkező mutációk, melyek deléciók, illetőleg inszerciók révén jönnek létre. Számunkra érdekesebbek a gének együttműködésének szempontjából azok az egyszerű megváltozások, amelyek egy kódoló tripleten belül következnek be, pl. mutáció révén a glicint meghatározó kód UGG megváltozhat és keletkezhet belőle

UGC = arginin (téves, missense kód)
UGA = metionin (téves, missense kód)
GGG = — — (értelmetlen, nonsense kód)

Az esetben, ha egy szupresszor mutáció jön létre, a téves kód egyrészt visszaalakulhat az eredeti UGG kódra, de egy újabb téves kóddal átalakulhat egy másik aminosavat, pl. az arginint meghatározó UGC → UUC = szerinre, UGU = valinra. Ezekben az esetekben meg van a lehetősége annak, hogy a kettős szubsztitució olyan módon képes a fehérje harmadlagos szerkezetét megváltoztatni, ami annak funkcionális aktivitását bizonyos mértékig helyreállítja. A CAMPBELL-féle csoportosítás második esetében a szupresszor génmutációk nem ugyanabban a kódegységben következnek be, hanem az eredetileg mutált cisztronon kívül. Ez esetben is a hibás polipeptid lánc tovább szintetizálódik, de emellett kis mennyiségű vad típusú fehérje is kialakul. Ez azután lehetővé teszi a mutánsnak a növekedését. Az ilyen szupresszió mechanizmusára vonatkozóan YANOFSKY és munkatársai (1961) feltételezik azt, hogy a szupresszor gének vagy az aminosav aktiváló enzimek elsődleges szerkezetét határozzák meg, vagy pedig a sRNA összetételét, ami a speciális aktiváló enzimekkel való kapcsolódási képességüket befolyásolja. A szupresszió

tehát a specificitás megváltozását eredményezi, ami lehetővé teszi a hiba helyreállítódását, pl.

glicin ⟶	arginin ⟶	arginin + glicin
vad	mutáns	szupresszált mutáns

A szupresszor mutációknak a géntermékeken keresztül történő restituáló hatására szép példa Benzer és Champe (1961) 5-fluoruracillal végzett vizsgálata. Az 5-fluorurocil *in vivo* nagymértékben képes a mRNS-be az uracil helyébe beépülni. Ilyenkor az esetek egy részében az 5-fluoruracil adenin helyett guaninnal kapcsolódik és a megfelelő sRNS molekulának szolgál templátként. Ez esetben, ha a DNS-ben tegyük fel citozin guanin ⟶ timin adenin tranzició révén mutáció következett be, úgy az 5-fluoruracilnak a mRNS-be történő beépülése funkcionális polipeptidet eredményez.

A szupresszor mutáció hatása az előző két szint mellett egy harmadik szinten is érvényesülhet, mégpedig a riboszómákon. Gorini és Kataja (1964) kimutatta, hogy ún. kondicionális streptomicin dependens *E. coli* mutánsok streptomicin jelenlétében az egyéb, pl. auxotrof defektusukat fenotípusosan korrigálják. Ez egy szupressziós mechanizmusra vezethető vissza. A streptomicin rezisztens sejtekben a riboszómák szerkezete oly módon változik meg, hogy azok képesek a vad fenotípus kódjának megfelelő polipeptid lánc szintézisére. Valóban: izolált riboszómákon kimutatható volt, hogy streptomicin jelenlétében a genetikai kód leolvasása a polipeptid lánc kialakulásának szintjén bizonyos mértékig helyreállítódik. Ez az sRNS, vagy aktiváló enzimek megváltozásától eltérően nem specifikus és ezekkel ellentétesen pleiotrop hatású szuppressziós mechanizmus.

A szupresszálható mutációk egy érdekes csoportja az értelmetlen (nonsense) mutációk. Ilyenek pl. az *E. coli* T4 fág *amber* mutánsai. Ezek fenotípusa a gazda sajátosságán alapul: ún. nem-korlátozó (permissive) gazdában elszaporodnak, míg a korlátozóban (nonpermissive) nem. Feltehetően a nem-korlátozó gazda egy ún. alléles szuppresszor gént tartalmaz, mely lehetővé teszi a fág elszaporodását, míg a korlátozó gazdában ilyen gén nincs, vagy pedig inaktív. Számos ilyen típusú mutánst írtak le pl. az ambivalens mutánsokat T4 fágnál (Benzer és Champe 1961), Campbell (1961) szuppresszor szenzitív mutánsait, és az *E. coli* alkáli foszfatáz mutánsait (Garen és Siddiqui, 1962). Ezeknél a mutánsoknál a kód leolvasása gátolt és feltehetően egy állj jelzés leadására — tehát egy értelmetlen kód eredményeként — a polipeptid lánc további szintézise leáll (Benzer és Champe, 1962; Garen és Siddiqui, 1962). Egészen újkeletű vizsgálatok alapján és legalábbis a T4 fágot illetően tisztán genetikai módszerekkel S. Brenner (1965) kimutatta, hogy a T4D fág fejfehérjéinek szintézisében az ilyen megállást jelző értelmetlen kód UAG és UAA. Szerinte ezek a kódok, elsősorban az utóbbi, azok a jelek, melyek az mRNS-ben a poli-

peptid lánc végződését jelzik. Hasonló eredményre jutott GAREN is (WEIGERT és GAREN, 1965), vizsgálatai alapján az értelmetlen kód bázisösszetétele ugyancsak UAG.

Az amber mutánsok esetében a nem-korlátozó gazda egy vagy több szuppresszort tartalmaz, ezek helyreállítják az üzenet leolvasásának lehetőségét. HILL és STENT (1965) szerint a szuppresszorok az *E. coli* kromoszómán konjugációs vizsgálatokkal lokalizálhatók és legkevesebb 4 ilyen szuppresszor volt kimutatható. Mind GAREN (WEIGERT és GAREN, 1965), mind BRENNER (STRETTON és BRENNER, 1965) vizsgálataiból kitűnik, hogy szuppresszált értelmetlen mutáció esetében nem okvetlen az eredeti aminosavak szintetizálódnak a polipeptid láncban, hanem pl. az *E. coli* alkálifoszfatáz mutánsok esetében a su-1 szuppresszor hatására szerin, míg a H 36 amber fág mutánsnál a vad típusban levő glutamin helyett su_1^+ gén hatására szerin. Az értelmetlen kód ilyen megváltozása lehetővé teszi a peptidlánc további szintézisét és még ha aminosav szubsztitúció révén is, de magában hordja annak a lehetőségét, hogy az üzenet lefordítása tovább haladjon és egy funkcionális fehérje szintetizálódhasson.

A fejezet elején említettem a gén-géntermék kolinearitásának kérdését. Ennek megközelítésére használták fel BRENNER és munkatársai (SARABHAI és mások, 1964) az amber mutánsokat. Különféle mutagénekkel amber mutánsokat indukálva és ezeket keresztezve a géntérképen sorrendjüket lokalizálták. Ezekből a mutánsokból a peptidfragmentumokat izolálva megállapították a fragmentumok méretét. A peptidlánc töredékek hossza határozott összefüggést mutatott annak a mutánsnak a géntérképen elfoglalt helyzetével, amiből izolálták. Tehát a fragmentum szintézisének minél későbbi szakaszában következik be az értelmetlen állj utasítás, annál hosszabb a peptid fragmentum egyrészt, másrészt az amber mutáció kromoszómán elfoglalt helyzete annál távolabb van a kromoszóma azon pontjától, honnan az mRNS szintézise iniciálódik. Tehát egy hierarchikus sorrend volt kimutatható és egy határozott lineáris összefüggés mutatkozott a gén és géntermék között.

A másik megközelítést YANOFSKY és munkatársai (1964) végezték el. Összehasonlították az *E. coli* triptofán szintetáz A génje 16 mutánsának egymástól való távolságát a géntérképen a triptofán szintetáz A fehérjéjében a megfelelő mutációk hatására kialakult aminosav szubsztitúciók távolságával. A mutánsok helyzete és a megváltozott aminosavak helyzete között a távolság olyannyira arányos volt, hogy a kettő hányadosa a hibahatáron felül soha nem változott. Ez a kísérlet ismételt bizonyítékát adta a géntermék kolinearitásának.

Zárszó. Egy olyan kiterjedt tudomány területéről, mint a molekuláris genetika szemelvényeket adni, módszereiről, problematikájáról és egyúttal az eredményekről is képet adni nagyon nehéz. Ennek ellenére megpróbáltunk egy összefoglaló vázlatot adni egyrészt a baktérium kromoszóma lemintázódá-

sának mechanizmusáról, másrészt pedig a gének együttműködésének különféle módjairól. Természetesen ez az előadás nem adhat teljes választ a három CRICK-i kérdésre (CRICK, 1964)

1. mi a genetikai anyag,
2. hogyan mintázódik le,
3. hogyan működik?

Remélem azonban, hogy ez az előadás, bár részletkérdésekre, de aktuális kérdésekre, azok methodologiájára és problematikájára választ tudott adni.

IRODALOM

ABBO, F. E. és A. B. PARDEE: Synthesis of macromolecules in synchronously dividing bacteria. Biochim. Biophys. Acta **39,** 478—485 (1960).

AMES, B. N. és PH. E. HARTMAN: Genes, enzymes, and control mechanisms in histidine biosynthesis. The molecular basis of neoplasia. pp. 322—345. Univ. Texas Press. Austin. (1962).

BARNER, H. D. és S. S. COHEN: Synchronization of division of a thymineless mutant of *Escherichia coli*. J. Bacteriol. **72,** 115—123 (1956).

BENZER, S.: The elementary units of heredity. The chemical basis of heredity. Ed. W. D. McElroy és B. Glass. Johns Hopkins Press. Baltimore. pp 70—93 (1957).

BENZER, S. és S. P. CHAMPE: Ambivalent rII mutants of phage T4. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. **47,** 1025—1038 (1961).

BENZER, S. és S. P. CHAMPE: A change from nonsense to sense in the genetic code. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. **48,** 1114—1121 (1962).

BONHOEFFER, F. és A. GIERER: On the growth mechanism of the bacterial chromosome. J. molec. Biol. **7,** 534—540 (1963).

BRENNER, S., A. O. W. STRETTON és S. KAPLAN: Genetic code: the "nonsense" triplets for chain termination and their suppression. Nature **206,** 994—998 (1965).

CAIRNS, J.: The bacterial chromosome and its manner of replication as seen by autoradiography. J. molec. Biol. **6,** 208—213 (1963).

CAIRNS, J.: The chromosome of *Escherichia coli*. Cold Spring Harbor Symp. **28,** 43—46 (1964).

CAMPBELL, A.: Sensitive mutants of bacteriophae *λ*. Virology **14,** 22—32 (1961).

CAMPBELL, A.: Fine structure genetics and its relation to function. Ann. Rev. Microbiol. **17,** 49—60 (1963).

CRICK, F. H. C. és L. E. ORGEL: The theory of inter-allelic complementation. J. molec. Biol. **8,** 161—165 (1964).

CRICK, F. C. H.: The biochemistry of genetics. Proc. of the Plenary Sessions of the VIth Int. Congr. of Biochemistry, New York. pp 109—128. Washington (1964).

DAVIS, J., W. GILBERT és L. GORINI: Streptomycin, suppression and the code. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. **51,** 883—890 (1964).

CATCHESIDE, D. G.: Interallelic complementation. Subunit structure of proteins. Brookhaven Symp. in Biol. No. 17. pp. 1—14. Brookhaven Nat. Lab. Upton, N. Y. (1964).

EDGAR, R. S. és R. H. EPSTEIN: Conditional lethal mutations in bacteriophage T4. Genetics Today **2,** 1—16. The Macmillan Co., New York (1965).

FINCHAM, J. R. S. és A. CODDINGTON: Complementation at the *am* locus of *Neurospora crassa:* a reaction between different mutant forms of glutamate dehydrogenase. J. molec. Biol. **6,** 361—373 (1963).

GAREN, A. és O. SIDDIQUI: Suppression of mutations in the alkaline phosphatase structural cistron. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. **48,** 1121—1127 (1962).

GAREN, A. és S. GAREN: Complementation *in vivo* between structural mutants of alkaline phosphatase from *E. coli*. J. molec. Biol. **7,** 13—22 (1963).

GORINI, L. és E. KATAJA: Streptomycin-induced oversuppression in *E. coli*. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. **51,** 995—1001 (1964).

HARTMAN, PH. E., Z. HARTMAN és D. SERMAN: Complementation mapping by abortive transduction of histidine requiring *Salmonella* mutants. J. gen. Microbiol. **22,** 354—368 (1960).

HARTMAN, PH. E. és S. R. SUSKIND: Gene action. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, N. J. (1965).

HILL, R. és G. S. STENT: Genetic factors determining suppression at the amber mutants phenotype of T4 bacteriophage. Biochem. Biophys. Res. Comm. **18,** 757—762 (1965).

HIROTA, Y. és P. H. A. SNEATH: F' and F mediated transduction in *Escherichia coli* K12. Japanese J. Genet. **36,** 307—318 (1961).

JACOB, F. és E. WOLLMAN: Sexuality and the genetics of bacteria. Academic Press, New York (1961).

JACOB, F., S. BRENNER és F. CUZIN: On the regulation of DNA replication in bacteria. Cold Spring Harbor Symp. **28,** 329—348 (1964).

KAPULER, A. M. és H. BERNSTEIN: A molecular model for an enzyme based on a correlation betwwen the genetic and complementation maps of the locus specifying the enzyme. J. molec. Biol. **6,** 443—451 (1963).

KLEINSCHMIDT, A. K.: Über die Intrazelluläre Formation von Bakterien-DNS. Z. Naturforsch. **16b,** 730—739 (1961).

LARK, K. G., T. REPKO és E. J. HOFFMAN: The effect of amino acid deprivation on subsequent deoxyribonucleic acid replication. Biochim. Biophys. Acta **76,** 9—24 (1963).

LARK, C. és K. G. LARK: Evidence for two distinct aspects of the mechanism regulating chromosome replication in *Escherichia coli*. J. molec. Biol. 10 : 120—136 (1964).

LOPER, J. C.: Enzyme complementation in mixed extracts of mutants from the *Salmonella* histidine B locus. Proc. Nat. Acad. Sci., U. S. **47,** 1440—1450 (1961).

LOPER, J. C., M. GRABNAR, R. C. STAHL, Z. HARTMAN és PH. E. HARTMAN: Genes and proteins involved in histidine biosynthesis in *Salmonella*. Subunit structure of proteins. Brookhaven Symp. in Biol. No **17,** pp. 15—52 (1964).

MAALØE, O.: The control of normal DNA replication in bacterial Cold Spring Harbor Symp. **26,** 45—52 (1961).

MCFALL, E. és G. S. STENT: Continuous synthesis of deoxyribonucleic acid in *Escherichia coli*. Biochim. Biophys. Acta **34,** 580—582 (1959).

MESELSON, M. és F. W. STAHL: The replication of DNA in *Escherichia coli*. Proc. Nat. Acad. Sci., U. S. **44,** 671—682 (1958).

NAGATA, T.: The molecular synchrony and sequential replication of DNA in *Escherichia coli*. Proc. Nat. Acad. Sci., U. S. **49,** 551—559 (1963).

OISHI, M., H. YOSHIKAWA és N. SUEOKA: Synchronous and dichotomous replications of the *Bacillus subtilis* chromosome during spore germination. Nature **204,** 1069—1073 (1964).

OZEKI, H.: Abortive transduction in purine-requiring mutants of *Salmonella typhimurium*. Carnegie Inst. Washington. Publ. No. **612,** pp. 97—106 (1956).

PRESCOTT, D. M.: The normal cell cycle. In Synchrony in cell division and growth. Ed. E. Zeuthen. Intersci. Publ. New York (1964).

PRITCHARD, R. A. és K. G. LARK: Induction of replication by thyimine starvation at the chromosome origin in *Echerichia coli*. J. molec. Biol. **9,** 288—307 (1964).

RYAN, F. J. és S. D. CETRULO: Directed mutation in a synchronized bacterial population. Biochem. Biophys. Res. Comm. **12,** 445—447 (1963).

SARABHAI, A. S., A. O. W. STRETTON, S. BRENNER és A. BOLLE: Co-linearity of the gene with the polypeptide chain. Nature **201,** 13—17 (1964).

SCHAECHTER, M., M. V. BENTZON és O. MAALØE: Synthesis of deoxyribonucleic acid during the division cycle of bacteria. Nature **183,** 1207—1208 (1959).

SCHLESINGER, M. J., A. TORRIANI és C. LEVINTHAL: In vitro formation of enzymatically active hybrid proteins from *E. coli* alkaline phosphatase CRM's. Cold Spring Harbor Symp. **28,** 539—542 (1964).

SPIEGELMAN, S. és M. HAYAISHI: The present status of the transfer of genetic information and its control. Cold Spring Harbor Symp. **28,** 161—181 (1964).

STOCKER, B. A. D.: Bacterial flagella: morphology, constitution and inheritance. Symp. Soc. Gen. Microbiol. **6,** 19—40 (1956).

STRETTON, A. O. W. és S. BRENNER: Molecular consequences of the amber mutation and its suppression. J. molec. Biol. **12,** 456—465 (1965).

WATSON, J. D. és F. H. C. CRICK: A structure for deoxyribose nucleic acid. Nature **171,** 737—738 (1953).

WEIGERT, M. G. és A. GAREN: Base composition of nonsense codons in *E. coli*. Nature **206,** 992—994 (1965).

WEIGERT, M. G. és A. GAREN: Amino acid substitutions resulting from suppression of non-

sense mutations I. Serine insertion by the su-1 suppressor gene. J. molec. Biol. **12,** 448—455 (1965).

YANOFSKY, C., D. R. HELINSKI és B. D. MALING: The effects of mutation on the composition and properties of the A protein of *Escherichia coli* tryptophan synthetase. Cold Spring Harbor Symp. **26,** 11—24 (1961).

YANOFSKY, C., B. C. CARLTON, J. R. GUEST, D. R. HELINSKI és U. HENNING: On the colinearity of gene structure and protein structure. Proc. Nat. Acad. Sci., U. S. **51,** 266—272 (1964).

YOSHIKAWA, H. és N. SUEOKA: Sequential replication of *Bacillus subtilis* chromosome, I. Comparison of marker frequencies in exponential and stationary growth phases. Proc. Nat. Acad. Sci., U. S. **49,** 559—556 (1963).

A BAKTERIOFÁGOK GENETIKAI FINOMSZERKEZETE

Sik Tibor

MTA Genetikai Intézet, Budapest

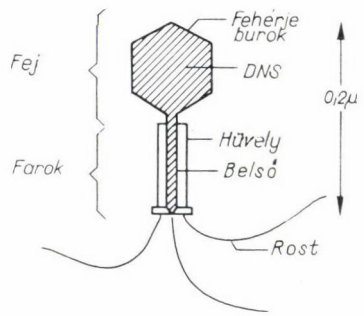
A bakteriofágok vírusok, melyek baktériumokat fertőznek és azok sejtjeiben szaporodnak parazita módon. Ezek a legegyszerűbb élő rendszerek. Önálló anyagcseréjük nincs, de tartalmazzák mindazt a genetikai információt, mely fágutódok létrehozásához és a folyamat szabályozásához szükséges. A bakteriofágok genetikai információ-tartalma egyénien sajátos. Megszabja, hogy a fág milyen baktérium sejtet képes fertőzni, milyen körülmények között szaporodik és az elszaporodott utódok miként lizálják a baktériumot.

A fág mint kísérleti anyag, a fertőzött baktérium pedig mint vizsgálati rendszer rendkívül alkalmas az öröklődés folyamatának tanulmányozására. Megfelel a kísérletező kutatók követelményeinek; az anyag meghatározott, biológiai aktivitása, életjelenségei a fertőzés és szaporodás követhetők, a kiindulási, szülő-fág és utódai genetikailag jellemezhetők. A rendszer, amiben a fágszaporodás történik a baktérium sejt, aminek anyagcseréje jól ismert, a kölcsönhatásban álló folyamatok biológiai körülményekhez képest ellenőrizhetők és szabályozhatók. A kedvező és megbízható kísérleti rendszernek is a következménye, hogy az öröklődés molekuláris magyarázata a klasszikus genetikai elvek szerint bakteriofágok vizsgálatán alapul.

A baktérium sejteket egyidejűleg különböző genetikai sajátságú bakteriofágokkal lehet fertőzni. Szaporodás közben a fágok öröklődési anyagai között kicserélődés történhet, vagyis klasszikus genetikai értelemben keresztezési kísérleteket lehet megvalósítani. A keresztezésekből következtetni lehet a szülők kromoszóma szerkezetére, az egyes funkciókat létrehozó egységek, a gének megváltozásaira, egymás melletti elhelyezkedésére és kölcsönhatásaira. Mód van az egyszerű felépítésű fágok öröklődési anyagának elkülönítésére és kémiai vagy fizikai elemzésére is. A genetikai, kémiai és fizikai eredményekből ismeretes a gének, illetve az egész kromoszóma molekuláris felépítése és szerkezete. A bakteriofágok genetikai anyagának szerkezetéből és funkciójából összegeződik a *genetikai finomszerkezet*. Ennek ismerete alapján magyarázható molekuláris szinten az öröklődési anyag replikációja, a kromoszóma részek közötti kicserélődés, a rekombináció, a gének megváltozása, a mutáció, kölcsönhatásaik, információjuk átadása a fehérjeszintézisre, a gének funkciójának ütemezett megnyilvánulása, a reguláció, vagyis a teljes életműködés.

Az öröklődési anyag DNS

Oswald T. Avery munkatársaival C. M. MacLeoddal és M. McCartyval 1944-ben tette közzé tíz éves kutatásuk eredményét, melyben kimutatták, hogy transzformációnál a sejtek közötti genetikai információt dezoxiribonukleinsav (DNS) viszi át. Ez volt az első felfedezés, mely az öröklődési anyag kémiai természetére fényt derített. Ez a felismerés lett kiindulópontja azoknak a kutatásoknak, melyeknek eredménye alapján ma általánosítva kimondhatjuk, hogy az átörökltő anyag nukleinsav, legtöbbször DNS.



1. ábra. Escherichia coli T4 fágjának szerkezete

A DNS az a vegyület, illetve makromolekula, mely tartalmazza az öröklődéshez szükséges információt, a DNS a kromoszóma legfontosabb alkotórésze, ez a baktériumok és fágok kromoszómája. Az öröklődési információnak valamely sajátságot meghatározó része a gén nem más, mint a DNS molekula egy darabja, egy polinukleotid szekvencia. A megfelelő azonos fogalmakat az ismertetésben váltakozva fogjuk használni.

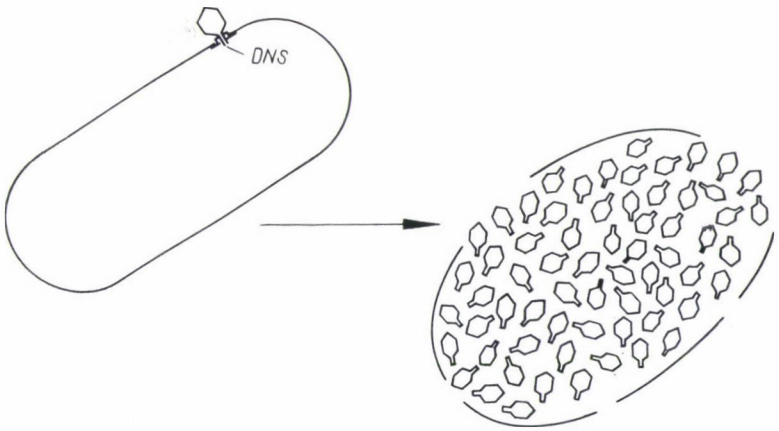
A bakteriofág kémiai elemzés szerint mintegy fele-fele arányban tartalmaz DNS-t és fehérjét. (Fraser 1957). Alakját és szerkezetét Kellenberger (1962) elektronmikroszkópos felvételei nyomán az 1. ábra mutatja.

Megkülönböztethetjük a fág fej és farok részét, illetve a farokrostokat. A belső részt a DNS makromolekula tölti ki és azt fehérjeburok veszi körül.

Fertőzéskor a fág a farokrostok segítségével tapad a baktérium sejtfalához (Anderson 1955). Ehhez a tapadáshoz specifikus sejtfal receptorokra van szükség a baktériumot körülvevő lipopoliszaharid és lipoprotein rétegben. Ezután a farokrész lizozimtartalma feloldja a sejtfal harmadik rétegét; a mukopolimérről lehasítja az aminosavakat, a muraminsavat és a glukozamint. A fág farokhüvely részének izomszerű összehúzódása injektálja a fág DNS-tartalmát a megfertőzött sejtbe.

Hershey és Chase 1952-ben klasszikus „*blendor*" (gyorsfordulatú keverő) kísérletükben mutatták ki, hogy a fertőzött sejtbe a fág DNS-tartalma jut, a

fehérjeburok kívül marad. P-32 izotóppal jelölt foszfátot, illetve S-35 izotóppal jelölt szulfátot tartalmazó tápoldaton szaporítottak *E. coli* T2 fágot. A foszfor izotóp a fág DNS-ét, a kén pedig a fehérjeburkát jelölte kizárólag. Az így jelölt fágokkal baktériumokat fertőztek. Az adszorpció után rövid idővel a sejttömeget gyors fordulattal keverték. Ez a keverés a baktériumokat, illetve most már infektív centrumokat nem befolyásolta, a sejtfalra tapadt üres fehérjeburkokat azonban lenyírta. A keverés után az S-35 aktivitás 75—80%-a hasadt



2. ábra. A bakteriofág fertőzési és szaporodási körfolyamata

le a sejtek faláról. A P-32 aktivitásnak csak 20—35 %-a volt lenyírható. E kísérletek mutatják, hogy fertőzéskor valóban a fág DNS-e hatol a baktérium sejtbe, a fehérjeburok kívül marad. A mintegy 20% eltávolíthatatlan fehérje részben a farokrostok, részben a fág 7%-nyi belső fehérjetartalmából összegeződik. A nyírással eltávolítható P-32 aktivitás azzal magyarázható, hogy nem minden fág képes DNS-ét a sejtbe injektálni.

A sejtekbe jutott fág DNS kell tartalmazza tehát a teljes információtartalmat, mely a fágutódok létrehozásához szükséges. A bejutott fág DNS vagy a kis mennyiségű fehérjeanyag a gazdabaktérium kromoszómájának replikációját gátolja, DNS-ének szintézisét megszünteti. A fág DNS átveszi a fehérjeszintézis irányítását. Olyan enzimek szintetizálódnak a fág információja alapján, melyek fág-DNS alkotórészeinek szintéziséhez szükségesek. A gazda DNS lebomlik és a meglevő baktérium riboszómákon a fág kromoszóma szerint szintetizálódott m-RNS-ek adják a fehérjeszintézis mintáját. Megindul a fág-DNS replikációja is a szétváló polinukleotid fonalak mintájára. A replikáció egymást követően többször ismétlődik a baktérium sejtben, vagyis számos fágutód teljes genomja készül el. A kész kromoszómák részei egymással kapcsolódhatnak, kicserélődések jöhetnek létre, esetleg készülő DNS molekulák kapcsolódnak, így rekombinálódás történik. Később megindul a fág-fej fehérje-

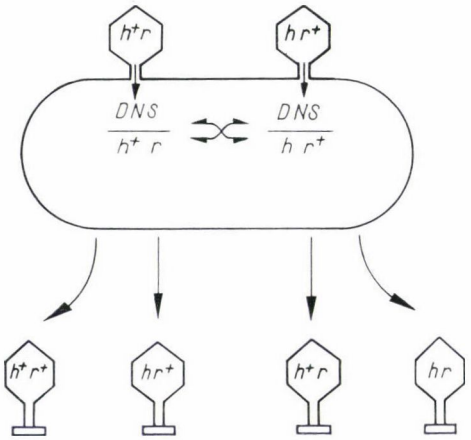
burkának és a farok, illetve farokrost fehérjének szintézise. A fág érés folyamatában a fehérjeburokba egy fág genomnak megfelelő DNS kerül. Végül a fág lizozimtartalma fellazítja a sejtfalat, az felreped és a fágutódok kiszabadulnak a közegbe, hogy újabb fertőzési körfolyamatot kezdjenek még nem fertőzött baktériumban *(2. ábra)*.

A transzformáció tehát a genetikai információ átvitelnek nem különleges esete, a fág esetében is a DNS az öröklődési anyag. Ennek nukleotid sorrendje, illetve elrendeződése a gének sorrendje, elhelyezkedése. A DNS makromolekula genetikai finomszerkezete a rekombináció, mutáció és funkció magyarázata, a kölcsönhatások alapja. A további ismertetésben a biológiai aktivitások elemzésével megszerkesztjük a fág kromoszóma géntérképét és ehhez rendeljük a DNS molekuláris szerkezetét.

A rekombináció és a térkép

Delbrück és Bailey (1946), valamint Hershey (1946) egy baktérium sejtet egyidejűleg két rokon, de genetikailag eltérő sajátságú fággal fertőzött *(3. ábra)*.

Az eltérő genetikai sajátság úgy alakul ki, hogy egy a természetben előforduló vadtípusú fág kromoszómáján valahol a nukleotid sorrendben változás keletkezik, mutáció történik. A mutáns fág mindaddig azonos mutáns típusú utódokat hoz létre, amíg az adott nukleotid sorrend ismét meg nem változik egy másik mutánstípussá vagy vissza nem alakul az eredeti nukleotid sorrenddé. A T2 és T4 páros coli-fágoknak van egy olyan génje, mely gátolja a baktérium sejtek lízisét. Ezek a fágok az indikátor baktériumot tartalmazó lemezen zavaros szélű tarfoltot képeznek. Ha a lizist gátló gén nukleotid sorrendjében valahol változás történik, ún. „gyors lizis" mutáns keletkezik. A mu-



3. ábra. Bakteriofág keresztezés két mutánssal és az utódok között talált négyféle genotípus

tánsok tarfoltja tiszta és határozott szélű. A „gyors lizis" mutánsokat „*r*" betűvel jelöljük, következésképpen a vadtípust r^+ jelenti. Az r^+ és r tehát a kromoszóma azonos génhelyének (locus) két lehetséges változata, *allélpár*.

Másik mutáns a „gazdaspecifikusságot" meghatározó génben lehetséges. Vadtípusú fágokkal megfertőzött baktériumtömegből izolálhatók olyan sejtek, melyek a fágra rezisztensek, azok nem képesek a sejtfalra adszorbeálódni. A fágok között viszont találhatók olyan mutánsok, melyek a vadtípusra rezisztens baktériumot is fertőzik, ezek a gazdaspecifikus mutánsok, jelük „*h*".

DELBRÜCK és BAILEY egyszerre két sajátságban különböző $T4r^+$ vadtípusú és T2r mutánssal fertőzött *E. coli* sejteket. Az utódok között nemcsak a szülői típusokat találták meg, hanem T4r mutáns és $T2r^+$ vadtípusú rekombinánsokat is.

HERSHEY T2 fág hr^+ „gazdaspecifikus" mutánsával és h^+r „gyorslízis" mutánsával fertőzött *coli* baktériumot. Ő is megtalálta az utódok között a a h^+r^+ vadtípusú és a hr kettős mutáns rekombinánsokat. Rekombinánsnak tehát azokat az utódokat nevezzük, melyek genomjuk egyik részét az egyik szülőtől, másik részét a másiktól nyerik. Ez a rekombináció a baktérium sejtekben a fertőző fágok DNS-ének újraszintézise, replikációja közben a makromolekulák, vagyis a fág kromoszómák között kicserélődés révén történhet. A leírt keresztezéseket az alábbi összeállítás mutatja.

	A szülő		B szülő	Rekombináns utódok
DELBRÜCK és BAILEY	$T4r^+$	×	T2r	T4r és $T2r^+$
HERSHEY	$T2hr^+$	×	$T2h^+r$	h^+r^+ és hr

HERSHEY és ROTMAN (1949) kiterjesztették a rekombináció vizsgálatokat. Különböző „gyors lizis" mutánsokat izoláltak T2 fágból. Ezeket sorszámokkal jelölték: r1, r2, r3 stb. A különböző r mutánsokat keresztezték a h mutánssal. Az utódok között meghatározták a rekombináns genotípusokat és azok előfordulási gyakoriságát. Eredményeiket az első táblázat mutatja.

1. táblázat

Rekombináns gyakoriságok T2h×T2r keresztezéseknél
(HERSHEY és ROTMAN nyomán, 1949)

Keresztezés		A genotípus %-a a populációban			
		h^+r^+	hr^+	h^+r	hr
h×r1	fertőzés	0	53	47	0
	hozam	12	42	34	12
h×r7	fertőzés	0	49	51	0
	hozam	5,9	56	32	6,4
h×r13	fertőzés	0	49	51	0
	hozam	0,74	59	39	0,94

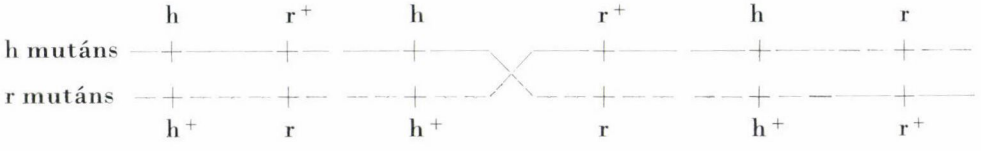
Az eredményekből az alábbi következtetések vonhatók le:

1. A két rekombináns genotípust mindhárom keresztezésnél megtalálták. A hr rekombináns genotípus %-os gyakorisága az utódok között azonos volt a h^+r^+ rekombinánséval. Az egymást kiegészítő rekombináns típusok tehát azonos gyakorisággal képződnek.

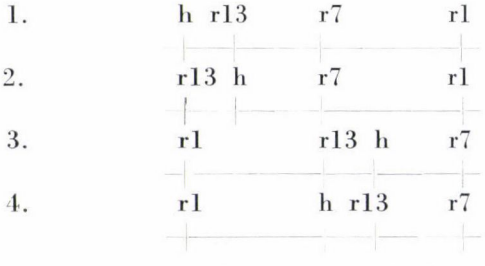
2. A képződött rekombinánsok összes gyakorisága igen változó és attól függ, hogy milyen r mutánsok szerepeltek a keresztezésben.

A h×r13 keresztezésben 1,7%, a h×r7 esetén 12,3%, a h×r1-nél pedig 24% az összes rekombináns száma.

HERSHEY és ROTMAN az eredményeket a klasszikus genetika alapján értelmezte. Rekombinációnál a kromoszómák között kicserélődés jön létre a vázlat szerint.



A gének a kromoszómában meghatározott lineáris sorrendben helyezkednek el. A kapcsolódási szerkezet bármely pontján történhet crossing-over, mely a kromoszóma homológ helyei között kicserélődést, crossovert eredményez. A kapcsolódási szerkezet két adott pontja között a kicserélődés valószínűsége annál nagyobb, minél távolabb van egymástól a két pont. A rekombinánsok előfordulási gyakorisága a keresztezésben vizsgált génlocusok közötti kapcsolódási távolságot tükrözi. Minél szorosabban kapcsolt két génhely, annál kevésbé valószínű, hogy közöttük kicserélődés történik. A keresztezési kísérletekkel HERSHEY és ROTMAN a rekombinánsok gyakorisága alapján a génhelyek között viszonylagos távolságokat kapott. A távolság csak támaszpontot ad, a térkép megszerkesztéséhez szükség van még arra, milyen irányban helyezkednek el a génhelyek egymástól. Az első táblázat eredményei alapján a következő lineáris kapcsolódási modelleket lehet összeállítani.



Megvan a valószínűsége annak, hogy a különböző r mutánsok egy gén nukleotid sorrendjén belül különböző helyeken történt megváltozások. Ezért

van az, hogy más-más távolságoknak megfelelő rekombináns értékeket kapunk. A négy különböző lehetőség közül további keresztezéseknek kell eldönteni, melyik elrendeződés a valódi. Minden egyes helyet a többihez kell viszonyítani. A kapott különböző r mutánsok közötti keresztezés rekombinánsai azt is igazolják, hogy nem azonos helyen történt a mutáció. Csak ilyen esetben kapható ugyanis vad genotípus. Más szóval, ha például r13 × r7 keresztezés vadtípusú rekombinánst is eredményez, akkor r13 és r7 *nem alléles*. A fág csak akkor hoz létre vadtípusú r^+ tarfoltot, ha minden lizist szabályozó génlocus a vadtípusnak megfelelő alakban van. Bárhol fordul elő mutáció a génben, az eredmény mutáns tarfolt. Az r mutánsok egymás közötti keresztezéséből és a már ismertetett h × r keresztezések rekombináns gyakorisági értékeiből az 1. változat bizonyult helytállónak. Az is kimutatható volt a keresztezésekből, hogy az egész fág genom a génlocusok egy nagy kapcsolódási egysége a kromoszóma. Megszerkesztették a T2 fág első genetikai térképét. A távolságokat ezen „térképegységekben" fejezték ki. A térképegység két génlocus között az a távolság, mely keresztezés után 1% rekombináns gyakoriságot eredményez. A maximális kapott gyakoriság azonban 30%, mely nem adja meg a reális, több száz egység hosszú térképet. A módszert tehát tovább kell finomítani.

A rekombináció részleteinek alapos tanulmányozásából az alábbiakat lehet megállapítani.

1. A szülői típusok és a rekombinánsok valóban egy sejtből keletkeznek. A rekombináció a replikáció után keletkezik nem azt megelőzően, mert különben csak a szülői vagy csak a rekombináns típusok szaporodnának (Hershey és Rotman 1949).

2. Három szülős keresztezés is elvégezhető. Ebben az esetben egyidejűleg három különböző genetikai sajátságú fág fertőz egy baktériumot. Ilyen keresztezés például $xy^+z^+ \times x^+yz^+ \times x^+y^+z$. Az utódok között előfordul az xyz genotípus, mely mind a három szülőtől örökölte genomját. Az ilyen háromszülős rekombináns csak egymást követő kicserélődésekből keletkezhet. Először két szülő DNS-e vesz részt a rekombinációban, majd a rekombináns és a harmadik szülő között történik kicserélődés. (Hershey és Chase 1951).

3. Ha a fertőzésnél a mutáns fágokból nem azonos számot veszünk, az utódok között a rekombinánsok nagyobb gyakorisággal szerepelnek, mint azt a kisebb számú szülő egyszeri kicserélődés esetén adna. Ez a tény is azt bizonyítja, hogy egymás után több rekombinációs lépés történik a fág utódok szaporodása folyamán. Egy kicserélődésnél ugyanis 0,5-nél nagyobb valószínűséggel nem keletkezhetnek rekombinánsok. (Doerman és Hill 1953; Visconti és Delbrück 1953).

4. A rekombinánsok száma függ a sejten belüli fágszaporodás idejétől. A rekombináció tehát nem a fágszaporodás kezdetén vagy annak végén történik, hanem folyamatos a kicserélődés a replikálódott genomok között. A szapo-

rodó vírusok populációjában genetikai egyensúly felé törekvés nyilvánul meg. (Doermann 1953; Hershey és Chase 1951; Levinthal és Visconti 1953).

Ezekből a megállapításokból indult ki Visconti és Delbrück (1953) rekombinációs teóriájuk összeállításánál. Figyelembe vették a fágszaporodás akkori ismereteit és evvel egyeztették össze teóriájukat. A fág DNS a vegetatív szaporodás folyamán a fertőzött baktérium sejten belül replikálódik. A szintetizálódott teljes vagy esetleges rész genomok között véletlenszerűen történhetnek párképzések, amelyek rekombinációhoz vezetnek. A rekombináció gyakorisága függ a vizsgált génhelyek távolságától, de függ az előfordult párképzések számától is. A térkép megszerkesztésénél ezt a tényezőt is számításba kell vennünk, amikor a rekombinációk gyakoriságát kiértékeljük. A két génhely kapcsolódását d-t úgy definiálhatjuk, hogy az a két locus közötti pontokon történt crossoverek átlagos száma a genomok közötti párképzésenként. Minél nagyobb a távolság a fág kromoszómán két locus között, annál nagyobb párképzésenként az ilyen crossoverek átlagos száma a vegetatív DNS tömegben. Észlelhető rekombináció azonban csak akkor van, ha páratlan számú a crossoverek száma két locus között. Páros kicserélődés esetén azonos szülőből származó kromoszóma darabhoz jutunk, tehát nincs rekombináció. A páratlan számokra vonatkozó Poisson eloszlási egyenlet adja meg tehát, hogy a rekombináció valószínűsége miként függ a kapcsolódási távolságtól.

$$p = \left(\frac{d}{1!} + \frac{d^3}{3!} + \frac{d^5}{5!} + \ldots\right)e^{-d} = 0{,}5\,(1 - e^{-2d}). \qquad (1)$$

Nagyon távoli kötésben levő génhelyek rekombinációs valószínűsége tart a 0,5-höz. Ebben az esetben ugyanis párképzésenként a crossoverek fele páratlan lesz, fele páros. Igen kis d-értékeknél a rekombináció valószínűsége egyenlő lesz a kapcsolódási távolsággal. Ha a crossoverek száma sokkal kisebb mint 1 párképzésenként, szinte minden crossover egyes kicserélődés lesz. Végül amikor azonos génhelyről van szó d = 0 lesz, a rekombinációk valószínűsége is p = 0 lesz. Mivel a rekombinánsok száma a párképzések számától is függ, ezt a faktort mint növekményt kell számításba vennünk. A rekombinánsok gyakoriságát az alábbi egyenlet adja meg.

$$R_{xy} = 0{,}5\ (1 - e^{-pm}) \qquad (2)$$

Ha a sejteket a mutánsokkal nem azonos arányban fertőzzük, a következő egyenletet kell alkalmazni.

$$R_{xy} = 2f\ (1 - f)\ (1 - e^{-pm}) \qquad (3)$$

Az egyenletekben R két adott génlocus esetén a rekombinánsok gyakorisága

f a fertőzésnél többségben adott szülő relatív gyakorisága, p a párképzésenkénti rekombinációs valószínűség, m a párképzések száma. Az R kísérletesen mérhető, a p és m nem. Két mód van azonban az m, vagyis a párképzések számának meghatározására.

Az egyik mód szerint azt kell alapul venni, hogy két nagyon távoli locus között a rekombináns valószínűség párképzésenként 0,5. A mért rekombináns gyakoriságot és ezt az elvi valószínűséget kell behelyettesíteni az azonos arányban fertőzött rekombinációs egyenletbe (2) és kiszámítható az m. Ezt az m értéket azután fel lehet használni a valódi kapcsolódási d érték kiszámítására az (1) egyenletből.

A második módszer a párképzés számának meghatározására a három tényezős keresztezés. Ebben két fággal történik a baktérium sejtek fertőzése, melyek egymástól három locusban különböznek, például $x^+y^+z^+ \times xyz$. Ha a helyek sorrendje a kromoszómán x—y—z és a párképzésenkénti rekombinációs valószínűség két-két hely között p_{xy}, p_{yz} és p_{xz}, akkor

$$p_{xz} = p_{xy} + p_{yz} - 2p_{xy}\, p_{yz} \tag{4}$$

Annak a valószínűsége, hogy x és z locus között párképzésenként páratlan számú crossover fog előfordulni az az xy és yz közötti párképzésenkénti páratlan számú crossoverek valószínűségének összege levonva belőle annak a valószínűségét, hogy mind x—y min y—z között páratlan számú crossover fog előfordulni. Ha kísérletesen meghatározzuk az utódok között a rekombinánsok arányát x és y, y és z, illetve x és z helyre, akkor három egyenletet állíthatunk fel, melyekbe ezeket az R értékeket behelyettesítjük.

$$R_{xy} = 0{,}5\,(1 - e^{-p_{xy}m})$$

$$R_{yz} = 0{,}5\,(1 - e^{-p_{yz}m})$$

$$R_{xz} = 0{,}5\,(1 - e^{-p_{xz}m})$$

Ebből a három egyenletből és a 4-es számúból az ismeretlen p és m értékeket kiszámíthatjuk. A második módszer pontosabb. Az elsővel $m = 1{,}3$ jött ki $T2hr \times T2h^+r^+$ keresztezésre, a második módszerrel $m = 5$.

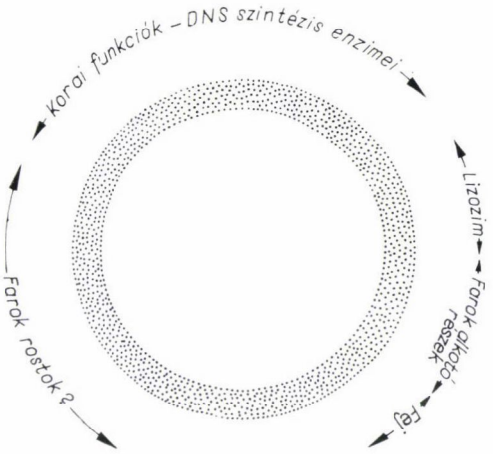
A térképegységre visszatérve az 1% rekombinációs frekvenciának $d = 0{,}004$ valódi kapcsolódási távolság felel meg, ami annyit jelent, hogy 250 térképegység között fordul elő egy crossover párképzésenként.

A kör alakú kromoszómatérkép

Streisinger, Edgar és Denhardt (1964) T4 fág mutánsokkal három faktoros keresztezéseket végeztek és a rekombinánsok gyakoriságát vizsgálták

a fertőzés után először megjelenő utódok között. Eredményeik egy része megfelelt a várakozásnak és a várt kötődési távolságokat kapták. Voltak azonban kivételek is, éspedig a legtávolabbi génhelyek esetén. Ezeknél a várt nagy távolság helyett szoros kötődést tapasztaltak. Ezt csak azzal tudták magyarázni, hogy a vizsgált T4 bakteriofág géntérképe kör alakú. E kör alakú génelrendeződés egyik magyarázata lehet, hogy a DNS molekulák replikációnál vagy a párképzési rendszerben végeikkel összekapcsolódnak. A fág érésekor ebből a többszörös genomból kerül egy genomnak megfelelő DNS az utód fehérjeburkába. Ezt a DNS darabot egy eddig ismeretlen mechanizmus szinte kiszabja a hosszában összekapcsolódott DNS láncból. Elképzelhető, hogy ilyen esetben nem minden genom kezdődik ugyanazon a ponton. Eredményként a populáció géntérképe kör alakot fog mutatni. Úgyis el lehet képzelni a géntérképnek ezt a sajátságát, hogy kör alakú kromoszómát képzelünk el, amely a kör különböző pontjain nyitható fel. A kör mentén a gének megszabott sorrendben helyezkednek el, de önmagába visszatérő végtelen rendszert alkotnak. Ha a populációban az utódokba jutott DNS molekulák a kör más-más pontján szakadnak fel, akkor alakul ki a T2 és T4 fágnál tapasztalt úgynevezett cirkulárisan permutált géntérkép. Ugyanerre a következtetésre jutott EPSTEIN munkatársaival (1963) amber mutánsokkal végzett kísérleteiben, valamint EDGAR munkatársaival (1963) hőérzékeny mutánsokkal. Mindkét mutánstípus egy génen belül csak bizonyos helyeken fordulhat elő, de a kromoszóma mentén számos génben megtalálták. Ezek a mutánsok bizonyos körülmények között letálisak, más esetben a vadtípushoz hasonlóan szaporodnak. Az amber mutánsok nem képesek szaporodni, illetve életképes utódot létrehozni *E. coli* B törzsön, a vadtípus normális gazdasejtjén, nőnek azonban a *coli* K12 származékán a CR63 törzsön. A hőérzékeny mutánsok csak 25°-on képesek szaporodni, 42°-on nem. A vadtípus mindkét hőfokon életképes utódokat hoz létre. A két kutatócsoport ezekkel az egész fág genomot végigjelölő mutánsokkal alapos és mintaszerűen összehangolt összműködésben térképezték a T4D fág kromoszómáját. Eredményeiket összehangolták régebbről ismert mutánsokkal készített térképekkel. A különböző laboratóriumokban készült vizsgálatok eredményei meggyőzően egyeztek. A rendelkezésre álló mutánsokkal azt is kimérték, hogy a különböző génekben történt mutációk milyen funkció kiesését eredményezték az életképes utódok létrehozásában, gátolt körülmények között. Vizsgálták a gazdabaktérium nukleáris lebomlását, a fág DNS szintézist, a sejtek lizisét, a farokrost antigének megjelenését és az elektronmikroszkóppal felismerhető fág alkotórészek jelenlétét. Attól függően, hogy az amber vagy hőérzékeny mutáns locus hol helyezkedett el a fág kromoszómáján, a fágutódok megjelenésének más-más lépésénél találtak gátlást. Az eredményekből megszerkesztették a vizsgált fág génfunkciós térképét (*4. ábra*).

Az eddigi felépítésből fokozatosan kialakult a gének és génlocusok vonalas elrendeződése és ez a T2 és T4 fág esetében kör alakú térképet eredményezett.



4. ábra
A T4 bacteriofág kör alakú génfunkciós térképe

A későbbiekben látni fogjuk, hogy sok fág géntérképe lineáris és ez a nukleotid sorrendben is kimutatható.

Heterozygoták és negatív interferencia

A bakteriofág génsorrendje és térképe a világosan értelmezhető kísérletek eredménye. A leegyszerűsített kép alkalmas arra, hogy alapot adjon a genom kialakulásának és működésének tárgyalásához. Van azonban számos jelenség, mely még tisztázatlan, további kutatásra ösztönöz és részletesebb megismerést tesz szükségessé.

Hershey és Chase (1951) $T2r \times T2r^+$ fágok keresztezésénél azt találta, hogy az utódok között 2% pontozott tarfoltot képez. Kimutatták, hogy ezek olyan fágokból keletkeznek, melyek kromoszómájában a genom egy része kétszer szerepel eltérő allél formában. Ugyanezt a tarfoltot kapták r és r^+ fág egyidejű szaporodása esetén is, tehát arra gondoltak, hogy valamiként összecsapódott fágokról van szó. Sugárérzékenységi vizsgálatok azonban bebizonyították, hogy a különleges tarfoltot egyetlen fág okozza, melynek kromoszómájában a vadtípusú r^+ és a mutáns r allél is szerepel. A klasszikus genetikából vett heterozygota névvel jelölték az ilyen fágot.

$h^+r^+ \times hr$ keresztezésekből kimutatták, hogy a kormoszóma kettőzöttsége csak véges darabokra korlátozódik. A kapcsolódási térképen távoli génlocusok esetén az egyik allélpárra heterozygoták között csak 3%-ban találtak a másik allélpárra is heterozygotát. $hr13 \times h^+r^+$ keresztezésnél viszont a heterozygoták 59%-a volt heterozygota mindkét allélpárra. Eszerint körülbelül a h—r13

locusok közötti távolság az a kromoszóma darab, mely kétszer szerepelhet a heterozygotákban.

A heterozygota állapot nem állandó. Replikáció után nem marad meg a kettőződött rész. Így heterozygota fágot tovább szaporítva az allélpár szegregálódik, vagyis az utódokban a két különvált genotípus található és ismét csak 2%-ban képződnek heterozygoták.

A molekuláris szerkezet felderítésére számos kísérletet végeztek. Doermann és Boehner (1964), valamint Doermann (1964) kísérleteikből feltételezik, hogy különböző heterozygotatípusok lehetségesek. Pontmutánsoknál, ahol csak egy nukleotid változott meg, előfordulhat, hogy a DNS molekula egyik fonala a vadtípusú nukleotid sorrendet tartalmazza és a másik fonalban van a megváltozás. Így úgynevezett heteroduplex molekula keletkezik. Ha a mutáció hosszabb nukleotid sorrendet érint, akkor a molekulának mind a mutáns sorrendet, mind a vadtípusú sorrendet (esetleg két különböző mutáns sorrendet) kell tartalmaznia. Ebben az esetben egy génhez tartozó nukleotid sorrend, illetve annak két változata kétszer szerepel a kromoszómában. A kettőződött részlet lehet a DNS molekula két végén vagy beékelve egymás mellé, illetve egymáshoz közel. Valószínű, hogy a heterozygota genom kialakulása általános tulajdonsága a vegetatív párképzési rendszerben kölcsönhatásban levő kromoszómáknak. A lehetséges heterozygota formák egyike mellett sem szól döntő bizonyíték. A rekombináció mechanizmusának pontosabb ismerete vezet majd közelebb megismerésükhöz.

A rekombináció következménye a negatív interferencia jelensége is. Magasabbrendű szervezeteknél azt találták, hogy két, viszonylag közeli génlocus közötti crossover csökkenti a valószínűségét egy harmadik szomszédos hely közötti crossovernek. Interferencia van tehát a kicserélődések között. Visconti és Delbrück azt találta, hogy fágok esetében a szomszédos crossoverek valószínűsége közeli génhelyek között nő. Ezt az előbbivel ellentétes jelenséget negatív interferenciának nevezték. Teóriájuk alapján nyilvánvalónak látszik a magyarázat, hogy a párképzésben szereplő DNS molekulák egymás melletti nukleotid sorrendjei között valószínűbb a többszörös kicserélődés, mint a párképzési rendszerben két véletlenszerűen kapcsolódó genom között. Chase és Doermann (1958) azonban a vártnál nagyságrenddel nagyobb kölcsönhatást talált és ezt „nagy negatív interferenciának" nevezte el. Ezt úgy magyarázzák, hogy a rekombinációs pontok eloszlása a kromoszómán nem átlagos, hanem csoportokba rendeződött, úgynevezett kapcsolódási területek vannak. Közeli génlocusok térképezése esetén a *d* kapcsolódási távolság számításánál ezt az interferenciát is figyelembe kell venni (Doermann 1964).

A gén nukleotid sorrend

A klasszikus meghatározás szerint a gén az öröklődési anyagnak az az egysége, mely a szülőtől az utódokba jutva felismerhető mutációképessége, rekombinálódása és valamilyen tulajdonság kialakítása révén.

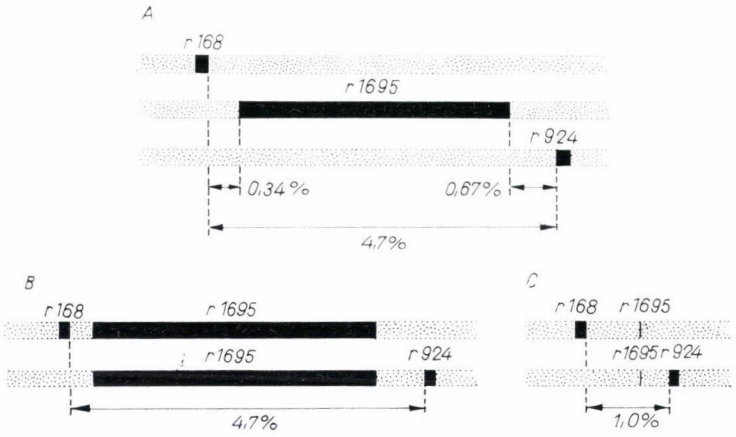
BENZER 1955-ben a klasszikus génkoncepciót új alapokra fektette. A T4 bakteriofág „gyors lizis" mutánsaival kísérletsorozatot kezdett, mely alapján nukleotidpár felbontással meghatározta a kromoszóma finomszerkezetét. Kiindulása az a felismerés volt, hogy a T2 és T4 fágok r mutánsai bárhol helyezkednek el a kromoszóma rII részében, nem szaporodnak a lizogén *E. coli* K12(λ) törzsön, csak az *E coli* B-n. A mutáns fágok fertőzik a K(λ)-t, de nem hoznak létre fertőző utódot és nincs lizis. BENZER így nagy felbontóképességű szelektív módszerhez jutott, mert az utódok között így 10^{-6} gyakorisággal, azaz 0,0001%-ban előforduló r^+ rekombinánsokat is ki tudott mutatni. Az eddigi 1%-os keresztezési felbontóképességet tehát sokszorosan megnövelte. Ezután izolált 60 r mutánst és páronkint keresztezve lineáris sorrendben helyezte őket el egy kapcsolódási térképen. Így finomszerkezetű genetikai térképhez jutott. A legkisebb kapott rekombináns-gyakoriság 0,01% volt. Ennél kisebb érték már 1 locus, illetve allélpár volt. Módszerének két nagyságrenddel nagyobb érzékenysége tehát megbízható eredményeket adott.

Az 1% rekombináns-gyakoriság alapján a T4 fág teljes genomja 700 térképegység volt. Két rII mutáns, melyek keresztezése 0,01% rekombináns-gyakoriságot eredményez, tehát 0,01 térképegység távolságra van egymástól. Ez $0{,}02/700 = 3 \times 10^{-5}$ része a teljes genomnak. Ha ezt átvisszük DNS szintre, mely kettős fonalú és a fág teljes genetikai információját hordozó egyetlen makromolekula, a térkép távolságot átszámíthatjuk nukleotidpárok számára. A fág DNS-e 2×10^5 nukleotidpárból áll, tehát az előbbi DNS törtrész $3 \times 10^{-5} \times 2 \times 10^5 = 6$ nukleotid párnak adódik, vagyis kimutatható a rekombináció két olyan mutációs pont között, melyeket 6 nukleotidpár választ el. Feltehető azonban, hogy ez a becslés még kissé magas érték és egy nukleotidpár különbség a kimutatható minimális rekombinációs távolság. A rekombináció egységeként tehát egy nukleotidpár állapítható meg.

A DNS makromolekula információ átadásának ismeretében meghatározhatjuk, hogy a nukleotid sorrendben melyik az a legkisebb megváltozás, mely mutációhoz vezet. Az adódik, hogy egy nukleotid átalakulása, kiesése vagy beiktatása a fonalmolekulába elegendő hibát jelent mutáció kialakulásához. A nukleotid megváltozást egy replikációs ciklus a komplementer polinukleotid fonalon tartósítja és a megváltozott DNS elegendő az utódban a mutáció megnyilvánulásához. Az ilyen örökletes megváltozásokat *pontmutációknak* nevezzük.

A különböző rII mutánsok részletes vizsgálata kimutatta, hogy megvan a valószínűsége a mutáció visszaalakulásának, reverziójának is. A visszaalakulás

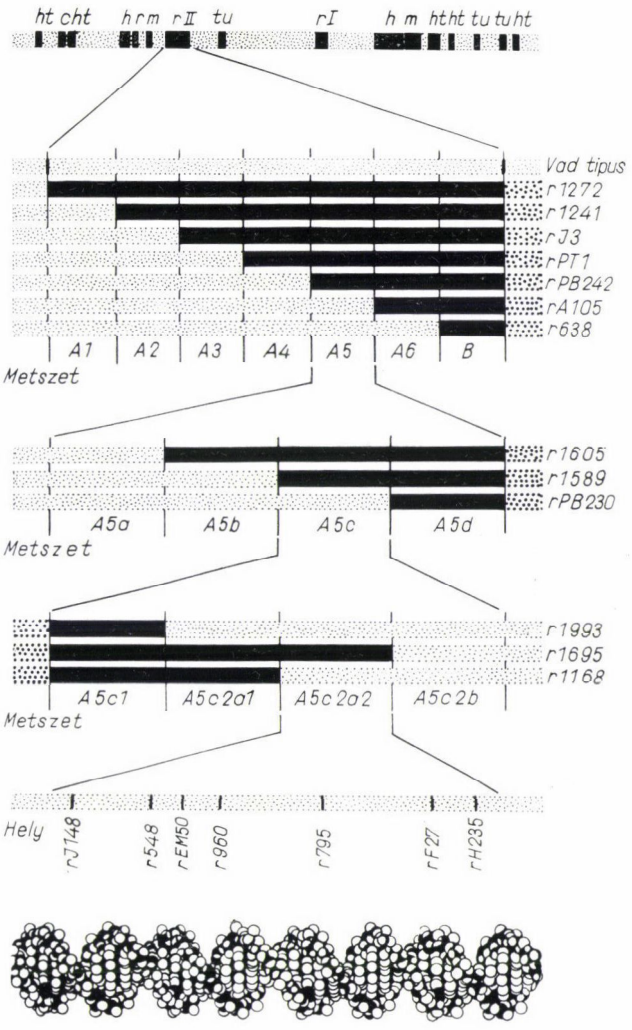
mértéke a reverziós indexszel adható meg. Ez az index bizonyos mutánsok esetén 10^{-2}, másoknál 10^{-7} értékig csökkenhet. A magasabb érték a pontmutánsokra jellemző. Az alacsony reverziós indexű mutánsokról feltételezték, hogy ezeknél a DNS nukleotid sorrendjének nagyobb darabja változott meg. BENZER ezeket a mutánsokat több ismert, nem alléles pontmutánssal keresztezte, melyeknél az utódok között nem kapott vad típusú rekombinánsokat



5. ábra. A deletio bizonyítására használt rII mutánsok. — *A)* Az r^+ rekombinánsoknál talált gyakorisági értékek r1695 hosszkiterjedésű mutáns és a végeihez közeli r168 és r924 pontmutánsok közötti keresztezésekből. *B)* Az r168r1695 és az r1695r924 rekombinánsok genetikai szerkezete, ha az r1695 egy inverzió vagy egy „nonsens" darab lenne. *C)* A fenti két rekombináns genetikai szerkezete, ha r1695 egy deletio. Az r168r1695×r1695r924 keresztezésben az r1695 és r168r1695r924 rekombinánsok gyakoriságát kell meghatározni. (NOMURA és BENZER nyomán)

Ezzel bizonyította, hogy a „hosszabb nukleotid sor" mutáns több pontmutáns locusát átfedi. Kérdés mármost, milyen jellegű a nukleotid sorrend megváltozása? Más nukleotidok épülnek-e be a DNS molekulába és „értelmetlen" (nonsens) sorrend keletkezik, vagy hiányzik egy darab a DNS-ből? A kérdés eldöntésére NOMURA és BENZER (1961) az 5. ábrán bemutatott kísérletet végezte el.

Egy hosszkiterjedésű mutáns és végeihez közel két pontmutánst választottak ki. Rekombináns-gyakoriságokból meghatározták a pontmutánsok távolságát, illetve a hosszkiterjedésű mutáns végei és a pontmutánsok közötti távolságot. Ezután a hosszmutáns és pontmutánsokból kapott kettős mutánsokat keresztezték. Ha a hosszmutáns megváltozott nonsens nukleotid sorrend, a kettős mutánsok keresztezéséből a pontmutánsok távolsága ugyanaz az érték, mint a pontmutánsok keresztezése esetén. Azt találták azonban, hogy a kettős mutánsok keresztezésében a pontmutánsok közelebb kerültek, vagyis a hosszmutánsnál egy nukleotid sorrend hiányzik. A hiányzó rész mintegy 800 nukleotid párnak adódott. Az ilyen mutánsokat *deletios mutánsoknak* nevezzük.



6. ábra. A T4 bakteriofág-kromoszóma rII részének finomszerkezete deletiós mutánsok felhasználásával. Első szint: A T4 fág genetikai kapcsolódási térképe. Második szint: Hét deletio az rII részt hét szelvényre osztja. Harmadik szint: Az A5 szelvényt három deletio további alszelvényekre bontja. Negyedik szint: Az A5c alszelvényben három deletio három további al-al-szelvényt határoz meg. Ötödik szint: Az A5c2a2 al-al-szelvény ideiglenes sorrendje és elhelyezkedése hét pontmutáns páronkénti keresztezése alapján. A legalsó DNS molekula-modell a genetikai részlettérkép léptékében nukleotidpár részletességgel mutatja a finomszerkezetet. (BENZER nyomán, Scientific American *206*, 70 (1962).

A mutáció egysége tehát a fág genom változó hosszúsága. Pontmutánsok esetén egy nukleotid, deletiós mutánsoknál néhány száz vagy ezer.

A deletiós és pontmutánsokat BENZER (1962) felhasználta a fág genom rII részének teljesen részletes rövidített térképezésére. Kísérleti rendszerét a

6. ábra mutatja. Először hosszabb deletiós mutánsokkal felosztotta az rII részt 7 szelvényre. Ezeket a szelvényeket azután további deletiós mutánsokkal alszelvényekre osztotta, majd ezeket tovább a harmadik szinten alalszelvényekre. Bármely pontmutáns helyét ezen az alapon néhány keresztezéssel az ábrán bemutatott szintek szerint fokozatos közelítéssel és végül ismert pontmutánsokkal keresztezve tudta pontosan meghatározni.

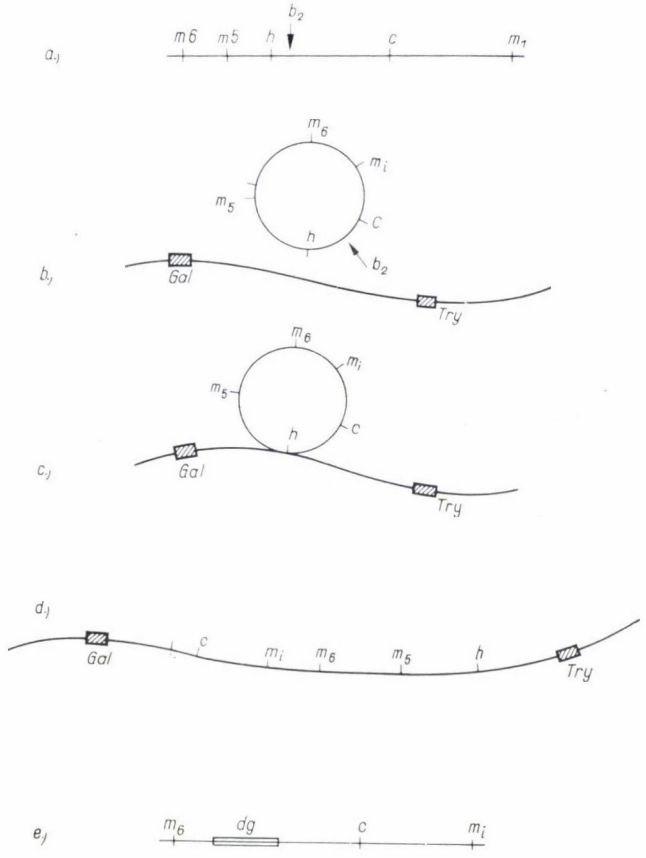
Az rII rész pontos ismeretében módja nyílt BENZERnek a kromoszóma funkciós egységének meghatározására is. Megállapította, hogy a genomnak ez a része két alegységből A és B cisztronból áll. Mindegyik cisztron egy fehérje szintézisét irányítja. Az előzőkből ismeretes, hogy az rII rész bármely pontján keletkezik mutáció, a fág nem szaporodik K(λ) baktériumon. Ha egy fág rII részének A cisztronjában van akár pont, akár deletiós mutáció, ezzel a fággal K(λ)-t fertőzünk és egyidejűleg megfertőzzük a baktériumot olyan fággal, melynek A cisztronja ép, fágszaporodást észlelünk. Az egyszerre fertőző fág ugyanis létrehozza az A cisztronnak megfelelő fehérjét és ezt a mutáns fág is fel tudja használni és szaporodni fog. Ugyanezt a kísérletet el tudjuk végezni a B cisztronban mutánssal is, ha vad típusú fággal fertőzünk egyidejűleg. Normális fágszaporodást kapunk akkor is, ha az egyik fág az A cisztronban, a másik a B-ben mutáns és ezekkel fertőzünk egyszerre. Az ilyen kísérletekben a cisztronok informálta fehérjék működésükben vagy aktivitásukban kiegészítik egymást. Ezért nevezzük ezt a jelenséget *komplementációnak*. Egy cisztronon belül a mutánsok nem adnak normális funkciót, nincs komplementáció (csak kivételes esetekben), BENZER alapján tehát a funkció egysége a cisztron.

A DNS mint kromoszóma

Az *E. coli* baktériumnak ismeretes az ún. λ fágja is. Ez több tulajdonságban különbözik az eddig tárgyalt T2 és T4 fágtól. Fertőzési jellege szerint mérsékelt fág. DNS-ét úgy juttatja a baktérium sejtbe, mint a páros T fágok. Nem minden esetben lizálja azonban a fertőzött sejtet. Előfordulhat az is, hogy a DNS bejut a sejtbe és a gazda DNS szintézise nem gátlódik és nem bomlik le. A fág DNS-e meghatározott helyen kapcsolódik a baktérium kromoszomájához, beépül annak genomjába, együtt replikálódik azzal és az utódokba is eljut. Ilyenkor azt mondjuk, hogy a fág profág alakban van a sejtben. A profágot tartalmazó sejtet *lizogén* baktériumnak nevezzük. A λ fágnak tehát van normális vegetatív és lizogén szaporodási ciklusa. A lizogenizálás folyamatát a 7. ábrán láthatjuk.

Az ábrán látható, hogy a vegetatívan szaporodó fág kapcsolódási térképe lineáris, bár ez a szaporodás az eddigi ismeretek szerint ugyanúgy játszódik le, mint a páros T fágoknál. A fág genomjának beépülési mechanizmusa és körülményei a baktérium kromoszómába nem voltak ismeretesek. Baktérium konjugálási kísérletekből azonban más kapcsolódási sorrend mutatkozott a

beépült λ genomra, mint a vegetatív fág kromoszómánál meghatározott. Eszerint a profág géntérképe más, mint az eredeti fágé volt. CAMPBELL (1962) javasolta e probléma megoldására az ábrán bemutatott modellt. Feltételezte, hogy



7. ábra. A λ fág genetikai térképe és beépülése a baktérium kromoszómába. *a)* A λ fág genetikai kapcsolódási térképe rekombinánsok gyakoriságából. A mutáns jelölések jelentése: m5 és m6 = közepes méretű tarfoltot adó mutánsok, h = gazdaspecifikusság mutáns, b2 = = sűrűségben eltérő mutáns, c = tiszta tarfoltot adó és mi = apró tarfoltot adó mutáns. (KAISER nyomán, 1955.) *b)* A fág kromoszóma körképzése és a baktérium kromoszóma fágspecifikus helye. *c)* A fág és baktérium kromoszóma kapcsolódása. *d)* A profágot tartalmazó lizogén baktérium kromoszóma. *(b, c* és *d* CAMPBELL nyomán, 1962.) *e)* A baktérium kromoszóma gal-locusát tartalmazó λ dg kromoszóma térképe. (ARBER szerint, 1958)

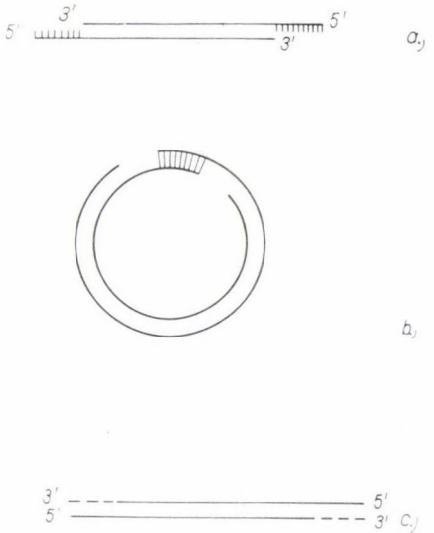
a fertőző fág DNS a sejten belül először kört képez. Ez a kör kapcsolódik a baktérium kromoszóma meghatározott helyéhez, szétnyílik a fág kromoszóma b2 pontjánál, összekapcsolódik a baktérium DNS-sel és a replikációnál a beépült profág már az átfordult gén sorrendben szintetizálódik. A beépülésnél tehát egy kör alakú kromoszóma egy ponton nyílik fel. Vegetatív szaporodásnál egy má-

sik ponton nyílhat fel a kör, és ez a két pont nem egyezik egymással. Rájöttek arra, hogy a lizogén baktériumban a fágszaporodást ultraibolya besugárzással lehet indukálni. Ez a folyamat valószínűleg ellentettje a profágbeépülésnek. A keletkezett fágutódok között 10^{-6} gyakorisággal találtak olyan fágot, mely genomjában tartalmazta a baktérium kromoszóma egy darabját. Ez a kromoszóma darab a „gal" gén locus, vagyis a galaktokináz és galaktóz-foszfát-uridil-transzferáz génje, mely a profág kapcsolódási helye mellett helyezkedik el a kromoszómán. Az ábrából az is kitűnik, hogy a lambda kromoszómából ilyenkor bizonyos lambda gének hiányoznak. A baktérium kromoszóma darabot tartalmazó λ fágot λ dg-nek nevezzük. CAMPBELL modellje alapján ennek képződését megérthetjük, ha feltételezzük, hogy az indukciónál a profágot tartalmazó baktérium kromoszómán nem a megfelelő helyen képződik hurok és a fággenom leszakadásakor a gal locusnak megfelelő nukleotid sorrend kerül a fág kromoszómába és kimarad ugyanakkora darab a profág a nukleotid sorrendből.

A λ dg fág segítségével a galaktóz fermentáló készséget fertőzés útján be lehet juttatni gal⁻ baktérium sejtekbe. Ezt a genetikai információ átvitelt *transzdukciónak* nevezzük. KAISER és HOGNESS (1960) megpróbálták a gal locust transzformációval is bejuttatni baktérium sejtekbe. A λ dg-ből DNS-t állítottak elő és ezt egy segítő fág fertőzése közben juttatták be a gal⁻ baktérium sejtjébe. A segítő fág a DNS bejuttatásához volt szükséges. Alkalmazása nélkül az *E. coli* sejtek nem veszik fel a DNS-t. Ilyen módon sikerült transzformációs módszert kidolgozni a λ kromoszóma tanulmányozására. Kimutatható az is, hogy a gal gén locus transzformációja közben a bevitt DNS a segítő fág genomjával is rekombinációra képes, tehát ún. cotranszformálás is lejátszódik. A segítő fág utódaiban a λ dg-vel képzett rekombinánsokat tudtak kimutatni.

KAISER (1962) transzformációs rendszerét megpróbálta felhasználni a genetikai kapcsolódási térkép és a DNS nukleotid sorrendje közötti párhuzam megállapítására. HERSHEY és munkatársai (1961) vizsgálatai szerint a DNS molekula bizonyos meghatározott fordulatszámmal keverve először a feléhez közel nyíródik ketté. Minden molekulából tehát két fél molekula keletkezik. KAISER ilyen keverési módszerrel, vagyis hidrodinamikus nyírással ketté vágta a λ fág DNS-ét. Ezután el tudta választani zóna centrifugálással a két fél DNS molekulát. Transzformációval megvizsgálta ezután a fél molekulák genetikai információtartalmát. Azt találta, hogy az egyik fél átviszi a c, mi és az ábrán nem jelölt i immunitási sajátságokat, melyek a rekombinációs térképen ugyanazon fél kromoszómán helyezkednek el. A m6, m5 és h locust nem sikerült transzformálnia a másik fél molekulát tartalmazó frakcióval, de ezek kimutathatóan nem tartalmazták a c, mi, és i locusokat. Mivel a transzformált sajátságok egy folyamatos sorrendben helyezkednek el a rekombinációs térképen (KAISER és JACOB 1957, KELLENBERGER, ZICHICHI és WEIGLE 1961), tehát a fél molekula a locusoknak csak a felét tartalmazza. A locusok egymás melletti sorrendje tehát a nukleotid sorrendnek felel meg.

HOGNESS és SIMMONS (1964) a λdg DNS-ének nyírását és a fél molekulák vizsgálatát végezte el. Transzformációs vizsgálatokkal kimutatták a fél molekulák locusait és elvégezték ezek kémiai elemzését is. Az ő vizsgálataik alapján is fedi a nukleotid sorrend a géntérképet. Csak az egyik fél molekula tartalmazta a gal locust. Fajsúly és hődenaturálásos módszerekkel bázisösszetétel különbségeket is ki tudtak mutatni a fél DNS molekulák között.



8. ábra. A bakteriofág kromoszómájának szerkezete. *a)* A natív DNS szerkezete. *b)* Körképzés. *c)* A szabad végekhez polimeráz hatására szintetizált polinukleotid. (STRACK és KAISER nyomán, 1964)

HERSHEY és BURGI (1963) kromatográfiás, ülepítéses és hődenaturálásos vizsgálatokkal azt találták, hogy a λ DNS hajlamos aggregálódásra. Eltérő kromatográfiás viselkedésű és más ülepedésű együtthatójú DNS formák keletkeznek a λ DNS tárolása vagy hőkezelése folyamán. Arra következtettek, hogy DNS molekulák végeikkel összekapcsolódhatnak, vagy egy molekula in vitro is képezhet kört, végei összekapcsolódnak. MACHATTIE és THOMAS elektronmikroszkóppal vizsgáltak λ fág DNS-t és azt találták, hogy hőkezelés után 50%-ban kaptak kör alakú molekulát. Ezek a vizsgálatok indokolták a DNS molekula végeinek alapos vizsgálatát. STRACK és KAISER (1965) sikeresen kimutatta, hogy a DNS molekulák vége egyfonalas polinukleotidlánc. A két molekula vég bázissorrendje egymást komplementálja, vagyis a két vég egymással bázispárok képzésével összekapcsolódhat. Így történik a körképződés a DNS molekulában, illetve kromoszómában *(8. ábra)*.

A vizsgálatok szerint a λ DNS szabad végei szükségesek a fertőzőképességhez. STRACK és KAISER DNS polimerázzal az egyfonalas molekula végekhez

komplementáló polinukleotidláncot szintetizált és ezzel megszüntette a körképződés lehetőségét. Az ilyen molekulák fertőzőképessége megszünt. Visszaállítható azonban az aktivitás, ha a molekula végeket exonukleáz III hidrolízissel ismét egyfonalassá alakítják.

A kromoszóma-szerkezet, a géntérkép és nukleotid sorrend összevetése szinte megtréfálta a kutatókat. A páros T fágok kromoszóma térképe kör alakúnak mutatkozott. A molekulák vizsgálata lineáris szerkezetet adott. A λ fág vegetatív géntérképe mindig lineáris volt, a kör alakú molekula-szerkezet pedig még szemmel is látható. A látszólagos ellentmondás a fág kromoszóma replikációjának és a rekombináció mechanizmusának megismerésével fog megszünni.

Berns és Thomas (1961) hődenaturálással a hosszirányban elfelezett, vagyis egyfonalas DNS molekulákat vizsgálták. A fonalakon nem tudtak töréseket kimutatni a polinukleotidláncban. Davison, Freifelder és Holloway viszont híg alkálival denaturálva a DNS molekulákat töréseket talált a polinukleotidfonalakon. Feltételezésük szerint ilyen egyfonalas törések in vivo is előfordulnak a DNS molekulában és ezek lennének a kapcsolódások és kicserélődések helyei. Eredményeiket sugár inaktiválásos mérésekkel is alátámasztották. Thomas és kutatócsoportja hőkezeléssel és a szétválasztott DNS fonalak renaturálásával T4 DNS-t is körré tudott alakítani, melyek elektronmikroszkópban láthatók. E kísérletek ismét a fonaltörések ellen szólnak. A vita tehát még eldöntetlen.

Thomas és Rubenstein (1964) igen szellemes kísérlettel vizsgálta kör alakú és lineáris génkapcsolódást mutató fágok nukleotid elrendeződését. A T5 *coli* fág ugyanúgy mint a λ lineáris génkapcsolódást mutat. A T2 fág kör alakú kromoszómáját már az előbbiekből megismertük, azonos a T4 fágéval. E két fág DNS-ének nukleotid elrendeződését vizsgálta és hasonlította össze Thomas és Rubenstein. Kaiser vizsgálataiból a gén locusok sorrendjéhez tudjuk rendelni a nukleotidok sorrendjét. Eszerint lineáris géntérkép esetén minden kromoszóma ugyanannál a locusnál kezdődik, és mindegyik *azonos* másiknál végződik. A DNS molekulák tehát azonos nukleotid sorrendnél kezdődnek és végeik nukleotid sorrendje is azonos. Ez azt jelenti, hogy minden molekula nukleotid elrendeződése egységes.
Betűsorral jellemezve:

A B C . . . . . K L M . . . . . X Y Z
A B C . . . . . K L M . . . . . X Y Z
A B C . . . . . K L M . . . . . X Y Z
A B C . . . . . K L M . . . . . X Y Z

A kör alakú géntérképnél, amilyen a T2 és T4 fágé, a locusok cirkulárisan permutáltak. Ugyanígy permutált a nukleotid elrendeződés is. Betűsorral jellemezve:

A B C . . . . . K L M . . . . . X Y Z
G H I . . . . . S T U . . . . . D E F
P R S . . . . . C D E . . . . . M N O
D E F . . . . . O P R . . . . . A B C

Ezt a betűsort úgy kaptuk, hogy az ABC-t kör alakban rendeztük el, majd a kört más-más betűnél kezdve írtuk végig a betűsort azonos irányban haladva a kör mentén. Látható az elrendeződésből, hogy egységes sorrend esetén a molekulákat egymás mellé helyezve azonos nukleotid sorrendek kerülnek egymás alá. Cirkuláris permutáció esetén a molekulák kezdőpontját el kell tolni ahhoz, hogy azonos nukleotid sorrendek kerüljenek egymás alá. Ha elképzeljük, hogy a már ismertetett hidrodinamikus nyírással a molekulákat tengelyükre merőlegesen kettévágjuk, egységes sorrend esetén két különböző nukleotid sorrendű fél molekulát kapunk, amint azt KAISERnél is láttuk λ DNS-sel végzett kísérleteiben. Cirkulárisan permutált sorrend esetén a fél molekulák nukleotid sorrendje véletlen eloszlású. Ismeretes az, hogy T5 és T2 DNS hidrodinamikus nyírása esetén nem pont a molekulák felén történik a törés. Minden molekulát egy hosszabb és egy rövidebb darabra lehet szétvágni. A különböző hosszúságú molekuladarabok kromatográfiával szétválaszthatók. Ha az ábrázolt betűsoroknál képzeljük el a nyírást és az egységes sorrendnél feltételezzük, hogy a rövidebb darab A—J-ig, vagy N—Z-ig terjedhet, vagyis a nyírás után a molekula egyik vagy másik végéből származhat. A rövid fél molekulák elkülönítése után ezek nem tartalmazzák a K, L és M betűvel jelölt nukleotid sorrendeket. Ugyenezt a nyírási kísérletet végezzük el a cirkulárisan permutált elrendezésű betűsoroknál is. Itt is válasszuk el a molekula egyik vagy másik végéről származó rövid fél darabokat. Azt tapasztaljuk, hogy az ezekből hiányzó, a molekulák középen elhelyezkedő nukleotid sorrendek nem azonosak. Ezt a modellt használta THOMAS és RUBENSTEIN kísérletük megtervezéséhez. Ismeretes az, hogyha egyfonalas polinukleotid láncot agarban megkötünk és ebből kromatografáló oszlopot készítünk, az oszlopra öntött oldatból megkötődnek azok a polinukleotidfonalak, melyek sorrendje az agarban megkötött fonallal hidrogénhidat tud képezni, vagyis a fonalak között kialakulhatnak a megfelelő bázispárok. Ezzel a módszerrel DNS molekulák vagy azok darabjai között homológ nukleotid sorrendeket lehet kimutatni. Ezt a módszert használták fel THOMAS és RUBENSTEIN a nukleotid elrendeződés vizsgálatokhoz.

Mind a T2, mind a T5 fágból DNS-t állítottak elő. Ezeket külön denaturálták és egyfonalas formában agarba ágyazták. Így előállítottak egy T5 és egy T2 kromatografáló oszlopot. Ezután C-14 izotóppal és P-32 izotóppal jelölt DNS-t állítottak elő mind a T2, mind a T5 fágból. A C-14-gyel jelölt DNS mintákat mint egész molekulákat használták fel. A P-32 jelölésű DNS-eket hidrodinamikusan nyírták és elválasztották a molekulák rövid fél darabját. Ezután

a T5 fág C-14 jelölésű egész DNS molekuláit összekeverték a P-32 jelölésű rövid fél darabokkal, az elegyet ultrahangozták és a keletkezett polinukleotid darabokat hővel denaturálták. Ez az oldat tartalmazott tehát C-14 jelölésű egyfonalas polinukleotidokat az egész molekulából és P-32 jelölésű polinukleotidfonalakat a rövid fél molekulákból. Mivel a T5 fág DNS-ének nukleotid elrendeződése egységes, az oldat nem tartalmazza a molekula középső részének megfelelő sorrendet P-32 jelöléssel. Ezt az oldatot a T5 DNS-t tartalmazó kromatografáló oszlopra vitték. Az agar oszlopon a polinukleotidfonalakból bizonyos százalék megkötődik. Meghatározták az izotóp arányt az átfolyó oldatban, majd meghatározták a megkötődött nukleotidok izotóp arányát is.

Ugyanezt a kísérletet elvégezték a T2 fág C-14 jelzésű teljes molekula nukleotidfonalainak és a P-32 rövid fél molekula nukleotidfonalainak keverékével is. Ebben a kísérletben is kimérték a T2 kromatografáló oszlopon átfolyó és megkötődött nukleotidok izotóp arányát.

A T2 DNS-ből származó P-32 és C-14 jelölésű polinukleotidfonalak elegyében minden nukleotid sorrend mindkét jelöléssel előfordul, mert a molekula közepéből kivágott P-32 nukleotid sorrend véletlen eloszlású. Az átfolyó és megkötődött nukleotid frakció izotóp arányában a T2 esetében nincs különbség, mert az oszlopra felvitt oldatban az egyfonalas polinukleotid sorrendek azonos valószínűséggel találnak homológ komplementáló DNS fonalat az agarban megkötött DNS-en. T5 fág esetében több nukleotidfonal van a DNS molekula elejéről és végéről az oszlopra felvitt elegyben, mint a közepéről. Erre az átfolyó és megkötődött frakciók izotóp arányának változásából lehetett következtetni.

Thomas és Rubenstein így az elrendeződési vizsgálatokból is kimutatta, a T2 és T5 fág különbségét, mely újabb bizonyíték, hogy a kromoszómák génkapcsolódási térképe megfelel a nukleotid sorrendnek.

Az ismertetés célja az volt, hogy az eddigi ismeretek alapján mutassa be a bakteriofágok genetikai finomszerkezetét. Nem foglalkozott tehát olyan fágokkal, amelynél a finomszerkezet a leegyszerűsített és érthető modelltől még nagyon eltérő. Ilyen fágok azok, melyek egyfonalas DNS-t vagy RNS-t tartalmaznak. Az ismertetett finomszerkezet nem alkalmas még, hogy minden jelenséget megmagyarázzon. Különösen a rekombináció mechanizmusa tartogat megoldandó problémákat a kutatók számára. Az eddig megismert térkép és az ahhoz rendelt nukleotid sorrend nem használható még teljes biztonsággal a fágok szaporodásában szereplő minden részlet magyarázatára. Bár a főbb elvekben megvan a hasonlóság a baktériumok és fágok kromoszómájának szerkezetében és működésében, ez még nem elegendő ahhoz, hogy ismereteinket differenciálódott organizmusokra is átvigyük. Az utóbbi 20 évben elért ragyogó eredményekkel kétségkívül megtört a jég és biztató kép alakult ki, melynek alapján a vizsgálatok elmélyíthetők. A hatalmas munkának talán fokmérője az is, hogy az elért eredményekért ezen a kutatási területen tízen kaptak

Nobel-díjat. A munka azonban nem fejeződött be, hiszen minden évben vannak új fordulatot jelentő felfedezések, melyek az öröklődés folyamatának részleteit tárják fel.

IRODALOM

ANDERSON, T. F.: The morphology and osmotic properties of bacteriophage system. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **18,** 179 (1953).

ARBER, W.: Transduction des charactères gal par le bacteriophage. Arch. Sci. (Geneva) **11,** 259 (1958).

AVERY, O. T., MACLEOD, C. M. és MACCARTY, M.: Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. Induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from pneumococcus type III. J. Exp. Med. **79,** 137 (1944).

BENZER, S.: Fine structure of a genetic region in bacteriophage. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A. **41,** 344 (1955).

BENZER, S.: The elementary units of heredity. In The Chemical Basis of Heredity (W. D. MacElroy és B. Glass, eds.) 70. o. The John Hopkins Press. Baltimore (1957).

BERNS, K. I. és THOMAS, C. A. JR.: A study of single polinucleotide chains derived from T2 and T4 bacteriophage. J. Mol. Biol. **3,** 289 (1961).

BURGI, E. és HERSHEY, A. D.: A relative molecular weight series derived from the nucleic acid of bacteriophage T2. J. Mol. Biol. **3,** 458 (1961).

CAMPBELL, A. M.: Episomes. Adv. Genet. **11,** 101 (1962).

CHASE, M. és DOERMANN, A. H.: High negativ interference over short segments of the genetic structure of bacteriophage T4. Genetics, **43,** 332 (1958).

DAVISON, P. F., FREIFELDER, D. és HOLLOWAY, B. W.: Interruptions in the polinucleotide strands in bacteriophage DNA. J. Mol. Biol. **8,** 1 (1964).

DELBRÜCK, M. és BAILEY, W. T.: Induced mutations in bacterial viruses. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **11,** 33 (1946).

DOERMANN, A. H.: The vegetative state in the life cycle of bacteriophage. Evidence for its occurrence and its genetic chracterization. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **18,** 3 (1953).

DOERMANN, A. H.: Recombination in bacteriophage T4 and the problem of high negative interference. Genetics Today. Proc. XI. Int. Congr. Genetics Pergamon Press (1964).

DOERMANN, A. H. és BOEHNER, L.: An experimental analysis of bacteriophage T4 heterozygotes. II. Distribution in a density gradient. J. Mol. Biol. **10,** 212 (1964).

DOERMANN, A. H. és HILL, M. B.: Genetic structure of bacteriophage T4 as described by recombination studies of factors influencing phage morphology. Genetics, **38,** 79 (1953).

EPSTEIN, R. H., BOLLE, A., STEINBERG, C. M., KELLENBERGER, E., BOY DE LA TOUR, E. és CHEVALLEY, R.

EDGAR, R. S., SUSMAN, M., DENHARDT, G. H. és LIELAUSIS, A.: Physiological studies of conditional lethal mutants of bacteriophage T4 D. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **28,** 375 (1963).

FRASER, D.: Comparison of the amino acid composition of T2 and T3 bacteriophages. J. Biol. Chem. **227,** 711 (1957).

HERSHEY, A. D.: Spontaneous mutations in bacterial viruses. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **11,** 67 (1946).

HERSHEY, A. D., BURGI, E. és INGRAHAM, L.: Cohesion of DNA molecules isolated from phage lambda. Proc. Nat. Acad. Sci. **49,** 748 (1963).

HERSHEY, A. D. és BURGI, E.: Complementary structure of interacting sites at the ends of lambda DNA molecules. Proc. Nat. Acad. Sci. **53,** 325 (1965).

HERSHEY, A. D. és CHASE, M.: Genetic recombination and heterozygosis in bacteriophage. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **16,** 471 (1951).

HERSHEY, A. D. és CHASE, M.: Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage. J. Gen. Physiol. **36,** 39 (1952).

HERSHEY, A. D. és ROTMAN, R.: Genetic recombination between hostrange and plaque type mutants of bacteriophage in single bacterial cells. Genetics, **34,** 44 (1949).

HOGNESS, D. S. és SIMMONS, J. R.: Breakage of λ dg DNA. Chemical and genetic characterisation of each isolated half molecule. J. Mol. Biol. **9,** 411 (1964).

KAISER, A. D.: A genetic study of the temperate coliphage λ. Virology, **1,** 424 (1955).

KAISER, A. D.: The production of phage chromosome fragments and their capacity for genetic transfer. J. Mol. Biol. **4,** 275 (1962).

KAISER, A. D. és HOGNESS, D. S.: The transformation of Escherichia coli with deoxyribonucleic acid isolated from bacteriophage λ dg. J. Mol. Biol. **2,** 392 (1960).

KAISER, A. D. és JACOB, F.: Recombination between related temperate bacteriophages and the genetic control of immunity and prophage localization. Virology, **4,** 509 (1957).

KELLENBERGER, E.: Vegetative bacteriophage and the maturation of virus particles. Adv. Virus Research. **8,** 1 (1962).

KELLENBERGER, G., ZICHICHI, M. L. és WEIGLE, J.: Exchange of DNA in the recombination of bacteriophage λ. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A. **47,** 869 (1961).

LEVINTHAL, C. és VISCONTI, N.: Growth and recombination in bacterial viruses. Genetics, **38,** 500 (1953).

MACHATTIE, L. A. és THOMAS, C. A. JR.: DNA from bacteriophage lambda: molecular length and conformation. Science, **144,** 1142 (1964).

NOMURA, M. és BENZER, S.: The nature of the deletion mutants in the rII region of phage T4. J. Mol. Biol. **3,** 684 (1961).

RUBENSTEIN, I., THOMAS, C. A. JR. és HERSHEY, A. D.: The molecular weights of T2 bacteriophage DNA and its first and second breakage products. Proc. Nat. Acad. Sci. **47,** 1113 (1961).

STAHL, F. W.: The mechanics of inheritance. Prentice-Hall, Inc. Englewood Clifs, New Jersey (1964).

STENT, G. S.: Molecular biology of bacterial viruses. W. H. Freeman and Co. San Francisco and London (1963).

STRACK, H. B. és KAISER, A. D.: On the structure of the ends of lambda DNA. J. Mol. Biol. **12,** 36 (1965).

STREISINGER, G., EDGAR, R. S. és DENHARDT, G. H.: Chromosome structure in phage T4. I. Circularity of the linkage map. Proc. Nat. Acad. Sci. **51,** 775 (1964).

THOMAS, C. A. JR. és RUBENSTEIN, I.: The arrangements of nucleotide sequences in T2 and T5 bacteriophage DNA molecules. Biophys. J. **4,** 93 (1964).

VISCONTI, N. és DELBRÜCK, M.: The mechanism of genetic recombination in phage. Genetics, **38,** 5 (1953).

BAKTÉRIUMOK REGULÁCIÓS MECHANIZMUSAI

ALFÖLDI LAJOS

Szegedi Orvostudományi Egyetem, Mikrobiológiai Intézet

„A baktériumok enzimjeinek a szintézise kettős genetikai kontrol alatt áll. Az ún. struktúrgének a proteinek molekuláris felépítését határozzák meg. Másrészről, funkcionálisan specializált genetikai determinánsok, amelyeket regulátor és operátorgéneknek nevezünk, ellenőrzik, citoplazma komponensek, más néven represszorok révén a proteinek szintézisének ütemét. A represszorokat specifikus metabolitok inaktiválhatják (indukció) vagy aktiválhatják (represszió). Ez a regulációs rendszer valószínűleg a gének felszínén képződő rövid életű intermedier vagy messenger szintézisének a szintjén működik."

Az idézett mondatokkal kezdődik JACOB és MONOD 1961-ben megjelent közleménye (1), amely joggal mondhatjuk, hogy új fejezetet nyitott a baktériumsejten belüli regulációs folyamatok értelmezésének területén.

A 2—3 μ nagyságú baktériumsejt bámulatos organizáltsága, a benne végbemenő folyamatok tökéletes koordináltsága és ökonomiája ui. régóta ismeretes, de hogy ezek a folyamatok milyen mechanizmusok révén értelmezhetők, az a biológus és a biokémikus számára rejtély volt egészen a közelmúltig.

Az elmúlt évtizedben azonban a biokémia és genetika annyit haladt előre, hogy a rendelkezésre álló adatok alapján a baktériumsejten belüli főbb regulációs mechanizmusok értelmezése megkísérelhetővé vált. F. JACOB és J. MONOD ennek az értelmezésnek a megadásában úttörően kezdeményezőek voltak s az alábbiakban nagyon sokat fogunk hivatkozni rájuk.

Előre kell bocsátanunk azt is, hogy a regulációs mechanizmusok értelmezésében alapvetően enzimológiai szemléletből fogunk kiindulni feltételezve azt, hogy az enzimek szintézise és az enzimek aktivitásának befolyásolása az a két legfőbb mechanizmus, amelyen keresztül végső soron minden sejten belüli szabályozási folyamat közös nevezőre hozható és értelmezhető.

I. Az enzimek (fehérjék) bioszintézisének regulációja

A) *Regulátorgének — struktúrgének. Operon elmélet*

A mikroorganizmusokban bizonyos enzimek csak az adott enzimre specifikus szubsztrátum jelenlétében képződnek. Ezeket az enzimeket KARSTROM 1938-ban adaptív enzimeknek nevezte el [2]. Később STANIER mutatott rá, hogy egy szubsztrátum jelenléte nem egyetlen enzim, hanem rendszerint az adott szubsztrátum metabolizmusában résztvevő több enzim egyidejű szintézisének a megindulását okozza (sequentialis indukció) [3]. Végül MONOD és munkatársai demonstrálták, hogy a szubsztrátummal kémiailag rokon, de a baktérium által nem hasznosítható vegyületek is a szubsztrátumra specifikus enzim szintézisét indíthatják meg s ezért az adaptív enzim kifejezést indukálható enzim elnevezésre változtatták [4]. Legismertebb ilyen *indukálható enzim* rendszerként az *E. coli* lactose metabolizmusában résztvevő enzimeket a β-galaktozidázét, a galaktozid-permeázét és galaktozid-acetilázét említhetjük meg. A rendszer központi enzimje a β-galaktozidáze, amely a tejcukrot glukozéra és galaktózéra bontja szét.

E. coli tenyészet baktériumai maltózetartalmú táptalajban szaporodva 1,0—10 egység enzim molekulát tartalmaznak 1 mg sz. a.-ban, megfelelő indukáló vegyület jelenlétében pedig 10 000 egység/mg-ot. A nagy mennyiségben megjelenő enzim bizonyítottan de novo szintézis eredményeként jelentkezik [5, 6]. Ezt a jelenséget nevezzük enzimindukciónak.

Az enzimszintézis szabályozásának egy másik formájánál olyan regulációs mechanizmus figyelhető meg, hogy adott folyamatot katalizáló enzimek bioszintézise a végtermék jelenlétében megszűnik. Ezt a jelenséget VOGEL 1957-ben *enzimrepresszió*-nak nevezte el [7]. A végtermék felhasználása után az ilyen enzimek bioszintézise újra megindul (derepresszió) s ekkor a szintézis kinetikája teljesen azonos az indukációnál tapasztalttal. A baktériumok lebontást katalizáló enzimei általában indukálhatók, a bioszintéziseket végzők pedig általában represszálhatóak.

Az enzimszintézis indukciója és represszió ja nagyon hasonló jelenségeknek látszanak. Mindkettő enzimprotein szintézisének az ütemét szabályozza, s önként adódott a gondolat, hogy a két jelenség különböző megnyilvánulási formáját jelenti egy és ugyanazon regulációs mechanizmusnak.

A probléma is azonos mindkét esetben: Milyen módon determinálja az induktor, vagy repressziónál miként szünteti meg a végtermék specifikusan olyan enzimek szintézisét, amellyel kémiai szempontból semmi rokonsága nincs? A regulációs mechanizmusok természetének megértését végül is az ún. constitutív és derepesszált mutánsok felismerése, azok genetikai és biokémiai tanulmányozása tette lehetővé.

Konstitutív mutánsok pl. indukálható *E. coli* tenyészetekből izolálhatók s az a tulajdonságuk, hogy a β-galaktozidázét az induktorok hiányában is folya-

matosan szintetizálják. Egy *derepresszált* mutáns pedig a végtermék, pl. arginin jelenlétében is szintetizálja az arginin bioszintézis enzimeit. A végtermék represszáló hatására tehát nem érzékeny.

A konstitutív és derepresszált baktériumokból izolált enzimek kémiai szerkezete semmiben nem különbözik a normál baktériumból izolált enzimétől. A regulációs zavar jelenléte tehát nem befolyásolja az enzimek struktúráját meghatározó genetikai információk értelmét. Valóban, genetikai elemzés igazolta is, hogy a konstitutív vagy derepresszált állapotot létrehozó mutációk nem az enzimek struktúráját megszabó génekben lokalizálhatók, hanem a genomnak rendszerint egy távolabbi pontján.

A fenti megfigyelések alapján JACOB és MONOD a baktériumokban *struktúrgéneket* és *regulátorgéneket* különböztetnek meg [1, 8]. Véleményük szerint a struktúrgének az enzimfehérjék aminosav szekvenciáját és ezen keresztül szerkezetét határozzák meg. A regulátorgének viszont a struktúrgének működését szabályozzák.

A regulátorgének tanulmányozására JACOB és MONOD kezében a már említett β-galaktozidáze szintetizáló rendszer rendkívül hasznos objektumnak bizonyult.

Genetikai kísérleteik egyikében konstitutívan inaktív enzimet termelő baktérium (genetikai jelöléssel: i^-z^-, ahol az i^- a regulátorgén konstitutív állapotát, z^- pedig az enzimstruktúrát meghatározó gént jelenti) indukálható, normál aktivitású enzimet termelő baktériummal (i^+z^+, ahol i^+ az indukálható állapotot, z^+ pedig a normális enzim struktúrára vonatkozó információt jelöli) kereszteztek. Az i^-z^-/i^+z^+ genomú diploid baktérium indukálhatóként viselkedett, amiből az következik, hogy az indukálható állapot ebben a kísérletben domináns volt a konstitutívval szemben.

Miután a regulátorgén normál állapotában enzimszintézis nincs (azt csak a kívülről adott induktor indítja meg) sőt amint az előbb láttuk, heterozigota diploid baktériumban a konstitutív állapotot is megszünteti, fel kell tételezni, hogy a regulátorgén normál állapotában az enzimszintézist gátolja. A normális indukálhatóságot meghatározó regulátorgén (i^+) dominanciáját még a trans helyzetben levő struktúrgénre is megtartja. Az i^+z^-/i^-z^+ heterozigota indukálható fenotípusú.

Az i^+ regulátorgén JACOB és MONOD értelmezése szerint csak a citoplazmán keresztül befolyásolhatja a trans helyzetben levő z^+ gén működését. Ez pedig csak úgy képzelhető el, ha a regulátorgén egy a citoplazmába kerülő anyag szintézisét irányítja, amely anyag aztán a struktúrgének működését gátolja.

Ezt a pontosan nem idenfikált anyagot JACOB és MONOD represszornak nevezték el. (Az anyag kémiai természete egyelőre nem érdekes a továbbiak szempontjából. Elég ha elfogadjuk egy represszoranyag létezését.)

A represszor tehát a regulátorgénnek a citoplazmában megjelenő specifikus produktuma, amely felfüggeszti a struktúrgén működését.

Miután a konstitutív vagy a derepresszált állapotú baktériumban a regulációs zavar rendszerint nem egyetlen enzimre, hanem enzimcsoportokra vonatkozik, logikusnak látszik az a következtetés is, hogy a regulátorgén a represszor révén nem egyes enzimek, hanem enzimcsoportok szintézisét ellenőrzi.

Konkrétizáljuk az eddig elmondottakat a laktóz bontásban szereplő indukálható enzimek esetére: Az *E. coli*-ban egymás mellett három struktúrgén foglal helyet, amely a β-galaktozidáze, a permeaze és acetilaze struktúráját határozza meg. Jelen van a baktérium genomjában az előbbiektől távolabb egy regulátorgén is, amely az említett enzimek szintézisét specifikusan ellenőrzi. A gén állandóan termeli a represszort, amely gátlás alatt tartja a struktúrgéneket. Ha a táptalajba tejcukrot teszünk, az bejut a baktériumba s JACOB és MONOD feltételezése szerint a represszoranyaghoz kapcsolódik s ezzel azt inaktíválja. Ilyenformán megszűnik a gátlás és az enzimek szintézise megindul. Ha táptalajból a tejcukor elhasználódik, nincs ami az állandóan keletkező represszort inaktiválja, a represszor újra hat s az enzimszintézis azonnal leáll.

Represszálható enzim esetében, JACOB és MONOD elképzelése szerint a regulátorgénről állandóan képződő represszor molekula inaktív lenne. Ezért a kontrolált enzimek szintézise állandóan folyik. A kívülről adott végtermék, pl. az arginin azonban a represszort aktívvá tenné s az aktiválás eredményeként az az adott enzimek szintézisét leállítaná.

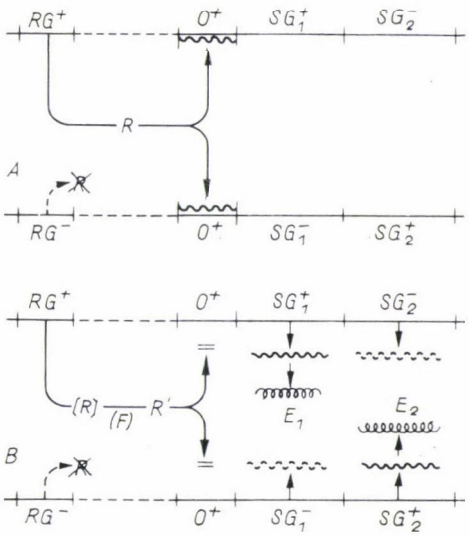
Indukálható rendszerben a regulátorgén konstitutív enzimtermelést eredményező mutációja a represszor struktúrájának a változását okozná: a mutáció eredményeként a represszor elveszti az érzékenységét az induktor iránt.

A represszálható rendszerben pedig a regulátorgén derepresszált állapotot úgy hozhatna létre, hogy a mutáció eredményeként olyan represszor képződne, amely a végtermékkel nem aktiválható.

A regulátorgének felismerése és a represszoranyag feltételezése révén tehát az enzimszintézis indukciójának és represszió jának kérdése igen jól értelmezhetővé vált.

Nem érintettük azonban eddig azt a problémakört, hogy a represszor hol és miként fejti ki hatását a fehérjeszintézis során. JACOB és MONOD elméletükben erre a kérdésre is pontos feleletet adtak. Feltételezték először is, hogy a struktúrgének információja egy rövid életű ribonukleinsav komponens, az ún. hírvivő RNS (messenger RNS) közvetítésével jut el a riboszomákhoz. Ezt az elképzelésüket azóta kísérletek sorozata igazolta [9, 10, 11]. Arra a konklúzióra jutottak továbbá, hogy a represszor a hírvivő RNS képződését akadályozza meg. Azt a pontot pedig, ahol a represszor ezt a gátló hatást kifejti, *operator* lokusznak nevezték el. Az operator lokusz lenne az a hely, ahonnan a struktúrgénen a m-RNS szintézise megindul. Ha ezt a területet a represszor zárja, a fehérjeszintézis információ hiányában szünetel. Genetikai analízissel valóban

sikerült kimutatniuk, hogy a β-glaktozidáze struktúráját meghatározó gén egyik szélén bekövetkező mutációk szintén konstitutív állapotot eredményeznek. Ezeket a mutánsokat megkülönböztetésül az előbbiektől operator-konstitutívaknak nevezték el. Az operator-konstitutív mutánsok további genetika analízise azt mutatta, hogy az operator csak a cisz helyzetben levő struktúrgénnek aktivitását befolyásolja (szemben a regulátorgénnel, amely transz helyzet-



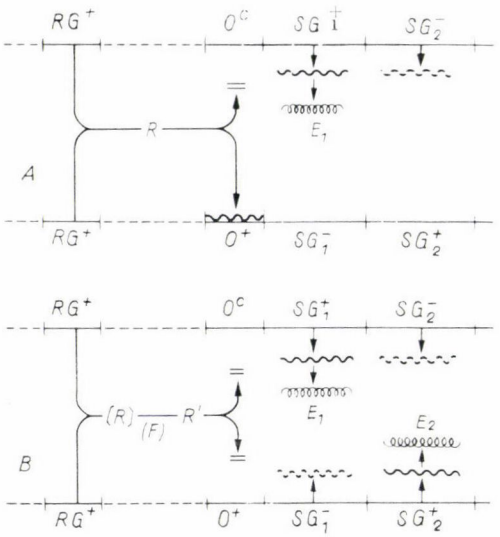
1. ábra. Diploid heterozigota baktériumban a regulátor konstitutív és az indukálható állapot közül az indukálható állapot a domináns. A hatás transz helyzetben levő strukturgénre is fennáll (8). *A.* A normál állapotú RG^+ regulátorgén represszort (R) képez. A represszor zárja az O^+ operator lokuszokat, ezért az operonok nem működnek. SG^+ strukturgén. Az RG^- regulátorgén inaktív represszort termel. Haploid állapotban az SG_1^-, SG_2^+ operon konstitutív módon működne. Diploid állapotban azonban az RG^+ gén represszora a citoplazmán keresztül is zárja az SG_1^-, SG_2^+ operont. *B.* Az indukáló anyag (F) hatására az R represszor inaktiválódik (R'). Az SG_1^+, SG_2^-, valamint az SG_1^-, SG_2^+ operonok működésbe lépnek. Az SG^- jelölésnél az adott strukturgénről, előzetesen létrehozott mutáció eredményeként, inaktív enzim molekula képződik. A felső operonból tehát csak az SG_1^+, az alsó operonból pedig csak az SG_2^+ gén képez normál aktivitású enzimet. Baktériumban tehát a keletkező normális enzimek alapján a működő operon azonosítható

ben is aktív). Az operatív és regulátor konstitutív mutánsok összehasonlítására az 1. és 2. ábra szolgál.

Jacob és Monod az egymás mellett elhelyezkedő gének (cisztronok) csoportját, amelynek koordinált működését egy operator lokusz ellenőrzi, *operon*nak nevezték el.

Ezek után össze is foglalhatjuk a Jacob és Monod felé regulációs modell jellegzetességeit. A struktúrgének egy csoportja, amely funkciójában az operátor lokusz révén koordinált kontrol alatt áll, alkot egy operont. Az operátor lokusz lehet szabad és zárt állapotban. Az operátor lokusz szabad állapotban az operon minden egyes génje messenger RNS képződést irányít s ilyen módon

enzimfehérje szintézise folyik a baktériumban. Az operátor lokuszt azonban az aktív represszor zárhatja. Ilyenkor a messenger RNS és következményeként az operonban helyet foglaló struktúrgének által specifikált enzimfehérjék szintézise megszűnik. A represszor molekula struktúráját az operonra specifikus regulátorgén határozza meg. A represszor molekula indukálható rendszerekben specifikus metebolitok révén inaktíválható, represszálható rendszerekben pedig aktíválható.



2. ábra. Diploid heterozigota baktériumban az operator-konstitutív és indukálható állapot közül a cisz helyzetben levő strukturgénekre a konstitutív állapot a domináns (8). *A.* A normál állapotú regulátorgének $(RG)^+$ normális represszort termelnek. Az operator lokuszban bekövetkezett mutáció eredményeként azonban az O^c lokusz nem érzékeny a represszor hatására, ezért az SG_1^+, SG_2^- operon állandóan működik. Az SG_1^-, SG_2^+ operon aktivitása viszont gátolt. *B.* Indukáló anyag (F) hatására az R represszor inaktiválódik (R'). Az SG_1^-, SG_2^+ operon is működésbe lép. Az SG^- jelölésnél az adott strukturgénből, előzetesen létrehozott mutáció eredményeként, inaktív enzimmolekula képződik. A felső operonból tehát csak az SG_1^+, az alsó operonból pedig csak az SG_2^+ képez normál aktivitású enzimet. Baktériumban tehát a keletkező normális enzimek alapján a működő operon azonosítható

Az operon elméletet JACOB és MONOD 1961-ben ismertették. Azóta a fehérjeszintézisre és annak regulációjára vonatkozó ismereteink sokat bővültek s joggal kérdezhetjük meg, hogy az elmúlt négy év eredményei mennyiben igazolták elképzeléseiket.

B) *A baktériumsejten belüli regulációs szintek*

Modulátor elmélet

A fehérjeszintézis menetét a biokémikusok több szakaszra bontják: 1. A DNS-ről m-RNS másolat képződik. 2. A m-RNS tripletjein riboszomák ha-

ladnak végig s aminosavat tartalmazó transfer-RNS molekulákat kötnek meg a m-RNS által specifikált sorrendben. 3. A kész fehérjemolekula szabaddá válik a riboszomáról [12].

Elméletileg a szintézis menetében több regulációs lehetőség adódik:

1. A m-RNS szintézisének gátlása, illetve szabaddá tétele.
2. A riboszoma messenger RNS kötődés akadályozása vagy annak szabaddá tétele.
3. A riboszoma funkciójának gátlása, módosítása, vagy szabaddá tétele.
4. A riboszoma m-RNS komplex működésének a befolyásolása a t-RNS ellátottság révén.

Az 1. lehetőség azonos a JACOB—MONOD-féle modellel. A 2. lényegében ugyanaz lenne annyi módosítással, hogy a represszor nem a DNS operátorára, hanem a m-RNS operátor lokuszán fejtené ki a hatását.

A riboszomák működésének részletei még meglehetősen tisztázatlanok. Ennek ellenére a Streptomycin érzékenység, rezisztencia és depdencia eredetének felderítésére végzett kísérletek során kiderült, hogy a m-RNS kodonjaiban jelenlevő információk értelme a riboszoma Str hatására bekövetkező megváltozásaként módosulást szenvedhet. Más szavakkal a m-RNS-ben levő információk értelmezésében a riboszomának aktív szerepe lehet [13]. Ez gyakorlatilag azt jelenti, hogy a 3. lehetőségnek is reális alapja kell hogy legyen.

Végezetül a fehérjeszintézis regulációjának igen reális lehetőségét jelenti a riboszoma—m-RNS komplexum működésének befolyásolhatósága a t-RNS ellátottság révén. Erre a lehetőségre kísérletes munkák alapján az elmúlt években AMES és HARTMAN a histidin operon tanulmányozása során hívták fel a figyelmet [14].

A histidin operon ezen aminosav bioszintézisében résztvevő enzimek szerkezetét és koordinált bioszintézisét határozza meg. AMES és HARTMAN megfigyelése szerint bármelyik enzim struktúráját meghatározó génben bekövetkezett mutáció az utána következő enzimek szintézisét mennyiségileg lényegesen csökkenti. Ez a tapasztalati tény nem magyarázható meg az eredeti operátor elmélet segítségével, mivel az operátor elmélet szerint a struktúrgénekben bekövetkező mutáció csak strukturális változást okozhat s nem lehet befolyással más enzimek szintézisének az ütemére.

Az operátor elmélet kívánalmainak ugyancsak ellentmondanak BECKWITH genetikai kísérletei, amelyek szerint az ún. operator° (operator zéró) mutánsok szupressziós mechanizmus alapján vad típusúakká alakíthatók vissza [15].

Az operator elméletben az olyan baktériumokat nevezték operator zéró mutánsoknak, amelyeknek operator lokuszaiban bekövetkezett mutáció lehetetlenné tette a m-RNS szintézisének a megindulását. Az ilyen mutánsok tehát elvesztették az adott operonban determinált enzimek termelésének a képessé-

gét. Az operátor elmélet ezen mutánsok szupresszióval történő revertálását nem tudja megmagyarázni.

Anélkül, hogy a kísérleti adatok részletes ismertetésére kitérnénk, az alábbiakban AMES és HARTMAN ún. modulációs elméletét mutatjuk be, amely a fenti jelenségek magyarázatára kielégítő megoldást ad.

Elképzelésük szerint egy operonban specifikált minden enzimre vonatkozó információt a DNS-ről egyetlen óriási messenger-RNS molekula veszi át. A messenger leolvasását a riboszoma csak az egyik meghatározott végén kezdheti el. Az egyes enzimek szintézisének befejezésekor azok a riboszoma-messenger komplexumról leválnak, azonban a riboszoma tovább halad a messengeren mindaddig, amíg végre nem ér. Annak a valószínűsége, hogy a riboszoma minden esetben teljesen végig haladjon az egész messenger molekulán annál kisebb, minél hosszabb a messenger. Ez azt jelenti, hogy a messenger kezdetén levő enzimek mindig nagyobb mennyiségben fognak szintetizálódni, mint a végén levők. Ezt ők a leolvasás polaritásának nevezik. Ha egy ilyen rendszerben a messenger molekulán valami olyan változás jön létre, ami a riboszoma továbbhaladásának valószínűségét lecsökkenti, akkor az azt fogja eredményezni, hogy az adott pont után elhelyezkedő minden enzim szintézisének a valószínűsége nagymértékben lecsökken. Ilyen változás lehet a struktúrgénben egy triplet megváltozása, amely az enzim struktúrájának a változásában nyilvánul meg. Létrejöhetnek azonban a struktúrgénben olyan triplet változások is, amelyek az enzim struktúráját nem változtatják meg, mégis poláris mutációt hoznak létre. Közismert ui. az, hogy a transzfer RNS adaptor tripletje ismeri fel a messengeren levő komplementer tripletet. Egy adott aminosavnak azonban többféle t-RNS-e lehet, s ezek igen eltérő mennyiségben állhatnak rendelkezésre a sejten belül. Nyilvánvaló, hogyha egy triplet a messengeren egy olyan t-RNS-re vonatkozik, amely bőven rendelkezésre áll, akkor a szintézis gyorsan mehet tovább. Ha azonban a triplet ugyanannak az t-RNS-nek a korlátozottan előforduló vállfajára specifikus, akkor a szintézis gyorsaságát ennek a t-RNS-nek a koncentrációja fogja megszabni. Ez gyakorlatilag azt jelenti, hogy a struktúrgénben bekövetkező olyan változás, amely annak szerkezetét még nem befolyásolja, mert ugyanazon aminosavat jelenti, regulációs hatású lehet azáltal, hogy a t-RNS nem áll rendelkezésre korlátlanul. Az ilyen triplet változást nevezték el AMES és HARTMAN modulációnak, a szintézis sebességét befolyásoló tripletet modulátor tripletnek. Innen származik az elmélet neve: modulátor elmélet.

A modulátor elmélet két alapvető vonásban különbözik az operátor teóriától: 1. Nincs szüksége külön operátor lokusz feltételezésére. Az operátor lokuszt itt az operon első struktúrgénjében levő első modulátor triplet helyettesíti. 2. Feltételezi, hogy a fehérjeszintézis sebességének regulációja nemcsak a messengerképződés, hanem a messengerleolvasás szintjén is lehetséges. A regulátorgén és annak terméke azonban ebbe az elméletbe is beleilleszthető, sőt annak feltételezése itt is szükséges [16].

A JACOB és MONOD féle operátor elmélet tehát, ha bizonyos módosításokkal is, még ma is helytállónak tekinthető. Az enzimfehérjék szintézisének a regulációja bakteriális rendszerekben jól értelmezhető a segítségével.

II. Az enzimaktivitás szabályozása. Allosztérikus proteinek

Az enzimfehérjék szintézisének regulációjával azonban korántsem magyarázható meg minden sejten belüli regulációs jelenség. ROBERTS és munkatársainak izotóppal jelzett aminosav beépülési kísérletei kimutatták, hogy az aminosav adása után azonnal a kívülről készen kapott aminosavat használja a sejt és hogy ilyenkor az adott aminosav szintézise azonnal leáll [17]. Ezek a jelenségek az enzimszintézis leállásával nem magyarázhatók, mivel a leállás pillanatában jelenlevő enzimmennyiség a baktériumból nem tűnik el azonnal, hanem az oszlások folyamán annak mennyisége fokozatosan csökken le. A baktériumból ilyenkor aktív enzim vonható ki, amely azonban sejten belül inaktív. Nyilvánvaló tehát, hogy sejten belül egy olyan regulációs mechanizmus hat az enzimekre, amely az adott enzim aktivitását szünteti meg.

Az enzimek aktivitását befolyásoló tényezők tanulmányozása csaknem egyidős az enzimek felfedezésével. Közismert ma már pl., hogy a szubsztrát- és enzimkoncentráció egymáshoz való viszonya, a közeg vegyhatása, a jelenlevő fémionok koncentrációja, bizonyos kofaktorok jelenléte, az enzimreakció eredményeként felhalmozott produktum koncentrációja, mind nagymértékben befolyásolhatja egy enzimreakció sebességét vagy irányát.

Az aminosavszintézis menetének kívülről adott aminosav hatására történő azonnali leállása azonban nem magyarázható ezekkel az ismert okokkal, mivel itt specifikusan az enzimreakciók egy egész sorozata áll le. Az aminosavak bioszintézise ugyanis mindig több lépésben következik be több enzim közreműködésével. A jelenség értelmezésére végül is UMBARGER, valamint GERHARDT és PARDEE kísérletei adtak magyarázatot. UMBARGER kimutatta ui., hogy az izoleucin bioszintézis első lépését végző treonin-deamináz enzim működése adott izoleucinkoncentrációval specifikusan gátolható [18]. GERHARDT és PARDEE pedig a pirimidinbázisok bioszintézisét végző első enzim, az aszpartil-transzkarbamiláz működését tudták specifikusan gátolni pirimidinbázisok megfelelő koncentrációjával [19, 20]. A jelenséget végtermék inhibíciónak, vagy feedback gátlásnak nevezték el.

E regulációs mechanizmus legfőbb érdekessége abban áll, hogy adott bioszintézisfolyamatban mindig csak egy enzim, nevezetesen az első mutat végtermék érzékenységet s a többiek nem. Evolúciós szempontból ez a tény egy rendkívül aktív kontrolmechanizmus kifejlődését jelenti, merthiszen egyetlen enzimen keresztül az utána következő enzimek működésének egész sorozata ellenőrizhető. A gátolhatóság koncentrációtól való függése pedig azt biztosítja,

hogy a végtermék koncentrációja sohasem emelkedik az optimális fölé. Felfedezésük időpontjában enzimológiai szempontból végtermékérzékeny enzimek komoly problémát jelentettek. Az enzimekre ui. a nagyfokú specifitás a jellemző, amennyiben mindig csak bizonyos szubsztrátumokra hatnak. A szubsztrátumra való hatásuk specifikusan és reverzibilisen rendszerint csak a szubsztrátumhoz térszerkezetükben igen hasonló vegyületekkel gátolható. Jelen esetben azonban a végtermék semmi kémiai analógiát nem mutat sem a szubsztrátummal, sem pedig az adott enzimreakció produktumával. Ennek ellenére sok esetben ún. kompetitív gátlást okoz a végtermék. A részletes tanulmányok során az is kiderült, hogy ezen enzimek aktivitása nemcsak gátolható, hanem esetleg fokozható is más enzimreakciók végtermékeivel.

CHANGEUX treonindeaminázzal végzett kísérletei tisztázták aztán, hogy az enzim molekula felszínén a szubsztrát-specifikus és az inhibitor-specifikus konfigurációk különböző helyeken találhatók [21]. Különböző fizikokémiai behatásokkal, mint hőkezelés, urea oldatban történő denaturálódás, sikerült ui. külön az enzim szubsztrátspecificitását vagy inhibitor specificitását megszüntetni. A gátlás mechanizmusának értelmezése azonban így is problémát jelentett, mert nem volt magyarázható, hogy az enzim molekula aktivitását miért gátolja felszínén megkötődött idegen molekula.

A végtermék gátlás és aktivitás mechanizmusa enzimológiai szempontból végül is csak egyféleképpen volt nagyarátható: A gátló vagy aktiváló anyagok az enzim specifikus csoportjához kapcsolódva annak térszerkezetét változtatják meg, reverzibilis módon. MONOD, CHANGEUX, JACOB ezeket az enzimeket, amelyek ilyen sajátossággal rendelkeznek, a többiektől megkülönböztetendő, *allosterikus* enzimeknek nevezték el (22).

Az allosterikus enzimek enzimológiai szempontból még mindig sok problémát rejtegetnek magukban s ezek vizsgálata szerte a világon jelenleg is igen nagy aktivitással folyik. A közelmúltban jelent meg MONOD és munkatársainak közleménye, ahol az eddig rendelkezésre álló adatokat elemzik s az allosztérikus kölcsönhatások átfogó értelmezését adják [23]. A problémakör iránt érdeklődő olvasóknak különösen figyelmébe ajánljuk ezt a cikket.

Bármennyire is nyitott kérdést jelentenek azonban az allosztérikus kölcsönhatások, mégis biztonsággal mondhatjuk, hogy általános biológiai szempontból s a baktériumsejten belüli regulációs mechanizmusok megértése szempontjából a jelenség felismerésének óriási jelentősége van. Az allosztérikus kölcsönhatások felismerése révén ui. olyan mechanizmus vált nyilvánvalóvá, amely a sejten belüli pontos regulációkat molekuláris szinten teszi érthetővé.

Az allosztérikus kölcsönhatások alapvető regulációs fontosságát mutatja az a tény is, hogy az ún. elágazó bioszintéziseknél, ahol az első lépések közösek, rendszerint a két különböző végtermékre különbözőképpen érzékeny két enzim végzi az első enzimreakciót [24, 25]. Tehát az evolúciós fejlődés során nagyobb értékűnek bizonyult a sejt számára inkább két enzimet termelni ugyanannak az

egy reakciónak az elvégzésére, mint elveszíteni az allosztériás reguláció lehetőségét.

Az allosztériás kölcsönhatások ismeretében most már ismét visszatérhetünk az enzim indukció és represszió jelenséghez, hogy megválaszoljunk egy kérdést, amelyet eddig még fel sem tettünk. Nevezetesen a represszoranyag mibenlétének a kérdését. Akár az operátor, akár a modulátor elméletet tekintjük is, a represszor feltételezésére mindenképpen szükségünk van. Ha a represszoranyagot egy allosztérikus kölcsönhatásra képes proteinnek tételezzük fel, akkor azonnal megmagyarázható az induktor- és aktivátoranyagok hatásmechanizmusa. Az allosztérikus kölcsönhatások felismerése előtt teljesen érthetetlen volt, hogy a tejcukor pl. miként tudná a megfelelő represszort specifikusan felismerni és azt reverzibilisen inaktiválni. Az allosztérikus kölcsönhatások ismeretében egy ilyen folyamatnak a megértése ma már semmi nehézséget nem jelent.

Az elmondottak rövid összefoglalásaként tehát azt mondhatjuk, hogy a sejten belüli regulációs mechanizmusok két legfontosabbikaként jelen ismereteink mellett az enzimfehérjék szintézisének és az enzimek működésének szabályozását tekintjük. Az enzimszintézis szabályozására durvább (indukció, represszió), az enzimaktivitás szabályozására pedig egy finom, gyors és igen pontos regulációs mechanizmus (végtermék gátlás, allosztérikus kölcsönhatás révén) van jelen a baktériumsejtekben. A kétféle regulációs mechanizmus természetes kölcsönhatásban áll egymással és így biztosítja a sejt működésének maximális ökonómiáját.

III. Az RNS szintézisének regulációja

A baktériumsejtben kimutatható RNS kb. 80%-a riboszoma eredetű. Mivel azonban a riboszomák működésének sebessége adott, nem meglepő az a megfigyelés, hogy különböző oszlási sebesség mellett (= különböző ütemű fehérjeszintézis mellett) a baktériumsejtek relatív RNS koncentrációja különböző. Gyors növekedés esetén relatíve magas, lassú oszlási tempónál relatíve alacsony az RNS-tartalmuk. Igen érdekes problémát jelent tehát, hogy milyen mechanizmusok regulálják a riboszomák szintézisének az ütemét, merthiszen végső soron ez a mechanizmus a fehérjeszintézis lehetséges maximális sebességét is eleve megszabja.

Elméletileg két lehetőséggel kell számolnunk: 1. Az RNS-t felépítő enzim rendszer szintézisén keresztül, 2. az RNS-t felépítő enzim rendszer funkciójának szabályozásán keresztül történik a reguláció.

Neidhardt és Fraenkel kísérleteikben a kérdés eldöntésére igen szellemes módon jártak el. Kimutatták, hogy gyorsan oszló sejtek szaporodásának lelassításakor az RNS szintézis időlegesen leáll, a protein és DNS szintézis pedig tovább folytatódik. A lelassulás periódusában levő baktériumokat (amelyek

RNS szintézise tehát leállt) chloromycetinnel kezelték. Ismeretes ui., hogy a chloromycetinnel (CM) kezelt baktériumokban a fehérjeszintézis leáll, az RNS szintézis pedig folytatódik. Azt találták, hogy ilyenkor az RNS szintézis azonnal maximális intenzitással megindult és igen magas szintre futott fel. A növekedés lelassulásának időszakában tehát az RNS szintetizáló mechanizmus működésképes, csak valami gátlás alatt van [26].

Az RNS szintézis regulációja tehát valószínűleg a szintetizáló enzim rendszer funkciójának szabályozásán keresztül történik. A regulációs folyamatban, amint az Gros és Gros munkájából kiderül, elsősorban az aminosavak játszanak elsőrendű szerepet [27].

Auxotroph baktériumok ui. az igényelt aminosav hiányában, CM jelenlétében nem szintetizálnak RNS-t. Ha azonban az aminosav csak nyomokban (10^{-6} mól) is jelen van, az RNS szintézis azonnal megindul. Ez a megfigyelés arra utal, hogy aminosavak nélkül az enzim rendszer működésképtelen, s hogy az aminosavaknak az RNS szintézis regulációjában valami katalitikus szerepük lehet [27].

Az aminosavak kontrolja az RNS szintézis menetére igen szigorú. Ha egy baktériumtól a számára szükséges aminosavat megvonjuk, az RNS szintézis azonnal leáll. Ez alól a szigorú szabály alól azonban érdekes kivételek ismeretesek. Borek és munkatársai mutatták ki, hogy az *E. coli* K-12 törzs egy methioninigényes mutánsa az aminosav megvonása után is még egy ideig RNS szintézist folytat [28]. Stent és Brenner pedig igazolták, hogy ez a tulajdonság más mutánsoknak is sajátossága lehet s hogy ez a tulajdonság egyik törzsről a másikra genetikai módszerekkel örökletesen átvihető [29]. Később a regulációért felelős gén pontos helyét is sikerült meghatározni a baktérium kromoszómán [30].

A gén valószínűleg valamelyik, az RNS szintézisben szerepet játszó enzim struktúráját szabja meg. A génben bekövetkezett mutáció eredményeként aztán olyan struktúraváltozás következik be az enzimben, hogy az az aminosavak regulációs hatása iránt érzéketlenné válik.

Az RNS szintézis regulációját Stent és Brenner, valamint Kurland és Maaløe egy időben próbálták a Jacob—Monod-féle regulációs modell analógiájára megmagyarázni [29, 31]. Elképzelésünk szerint ebben a rendszerben is regulátorgénnel, represszorral és struktúrgénekkel kell számolnunk. Miután pedig a 20 aminosav közül egyetlen egy hiánya elegendő az RNS szintézis leállításához, a rendszernek olyannak kell lennie, hogy az aminosavak bármelyike specifikus reguláló hatást fejthessen ki.

A fehérjeszintézis menetének ismeretében önként kínálkozott a húsz aminosavra specifikus komponens: a t-RNS, illetőleg az aktiváló enzimek. Különböző megfontolások alapján Stent és Brenner, valamint Kurland és Maaløe is a t-RNS-nek tulajdonítanak fontos regulációs szerepet, amennyiben a szabad t-RNS-t a riboszómaszintézis represszorának tartják.

Az RNS szintézis regulációját tehát úgy lehetne elképzelni, hogy a regulátorgén egy enzim szintézisét irányítaná, amelynek funkciója a struktúrgén riboszóma-struktúrára vonatkozó információinak a lemásolása lenne. A t-RNS-ek is állandó ütemben szintetizálódnának. A riboszómát szintetizáló enzim aktivitását bármely szabad t-RNS gátolni lenne képes. Aminosavval kötődött t-RNS gátló hatást nem okozna, így aminosavak jelenlétében a riboszómaszintézis teljes sebességgel megindulhatna.

A t-RNS lehetséges regulációs szerepére vonatkozóan különben nagyon érdekesek Ames és munkatársainak elképzelései, amely szerint nem a szabad aminosavak, hanem a transfer-RNS-hez kötött aminosavak aktiválnák a represszálható enzimszintetizáló rendszerek represszorát. Ha ez az elképzelésük igaznak bizonyulna, akkor a t-RNS molekuláknak az aminosavak bioszintézisében és riboszóma—RNS szintézisében egyidejű, de ellenkező irányú regulációs szerepet kellene tulajdonítani.

IV. A DNS szintézis regulációja

A DNS szintézise, „önreprodukciója" természetesen enzimreakciók sorozatán keresztül történik. A DNS jelenlétében működő DNS polimeráze (Kornberg enzim, „duplikáze") in vitro rendszerben folyamatosan működik s látszólag semmi regulációnak nincs alávetve.

A baktériumsejtben levő DNS azonban sejtoszlásonként egyszer kétszereződik meg annak ellenére, hogy sejten belül is a szintézis sebessége állandó (10^3 nukleotida/sec). Ha tehát a sejtoszlás lelassul, a megduplázódott DNS szintézise leáll és további szintézisre csak az oszlás bekövetkezése után kerülhet sor [32, 33].

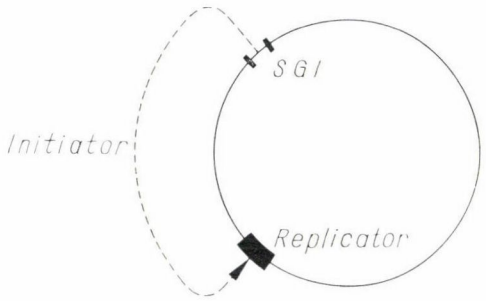
A regulációs folyamat értelmezését két oldalról közelíthetjük meg: 1. Miért áll le a DNS szintézis, ha egy duplikálódási folyamat végbement? 2. Milyen jelzés indítja meg a folyamatot újra?

Maaløe és munkatársai kimutatták, hogy a DNS szintézis újra való megindulásához fehérjeszintézisre van szükség. Ha azonban egy rövid időszak a fehérjeszintézisre a baktériumok rendelkezésére áll, a fehérjeszintézis további gátlása alatt is befejeződik a DNS szintézis ciklusa [32, 33].

Cairns autoradigráfiás kísérletei azt a meglepő eredményt hozták, hogy a baktériumokban a DNS morfológiailag egy kör alakú képződmény formájában van jelen [34, 35]. Elképzelhető tehát, hogy zárt formájában a DNS molekula a duplikáze enzim számára nem hozzáférhető. Így ha egy szintézisfolyamat azon végighaladt, akkor egy újabb duplikálásra csak valami pozitív inger, a gyűrű valahol való megnyitása után kerülhet sor. Nem feltétlenül szükséges tehát gátlást feltételezni ahhoz, hogy a szintézis menetének leállását a következő oszlásig megmagyarázzuk. Ilyenformán a kérdést módunkban van leegyszerűsíteni az iniciáció problémájára. A DNS gyűrű megnyitásának lehetősége

specifikus enzimreakció révén elképzelhető, az új duplikációhoz szükséges fehérje pl. éppen ez az enzim is lehetne.

Az elmondott biokémiai evidenciák, valamint genetikai kísérletek alapján JACOB, BRENNER, CUZIN az önálló replikációra képes DNS szegmentumokat *replikon*nak nevezte el és két specifikus determinánst tételeznek fel benne (3. ábra). 1. Egyetlen struktúrgén, amely egy *specifikus iniciátor* molekula szintézisét kontrolálja. 2. Egy *replikátor* lokusz, amelyet a specifikus iniciátor



3. ábra. JACOB, BRENNER, CUZIN sémája a DNS duplikálódás regulációjának szemléltetésére (36). Az SGI strukturgén egy enzim strukturáját szabja meg (iniciator), amely a replikátor lokuszra specifikus. Ha az iniciátor enzim a replikátor lokuszon duplikálódást megindította, egy másik enzim automatikusan végig viszi a folyamatot az egész DNS molekulán

felismer, és ahonnan a DNS duplikációja elkezdődhet [36]. A rendszernek ezek az elemei specifikusak lennének abban az értelemben, hogy az azonos replikon által termelt iniciátor molekula csak az azonos replikon replikátor lokuszára képes hatni s más replikon replikátor lokuszára hatástalan. Ha azonban egyszer egy adott replikonban az iniciátor a duplikáció folyamatát elindította, az automatikusan tovább folyik, amíg egy duplikációs ciklus be nem fejeződik. Ebben a hipotézisben a bizonytalansági faktort az iniciátor molekula szakaszos szintézisének a kérdése jelenti. Elképzelhető azonban, hogy a szükséges jelzés a legkülönbözőbb folyamatoktól jöhet. JACOB és munkatársai a sejtfelszín bizonyos komponenseinek tulajdonítanak jelentőséget az iniciátor szintézisében.

V. A baktériumban megismert regulációs mechanizmusok általános biológiai jelentősége

Az előbbiekben azt kívántuk szemléltetni, hogy a baktériumsejten belüli legkülönbözőbb regulációs folyamatok közös nevezőre hozhatók és jól értelmezhetők, ha azokat enzimológiai szempontból vizsgáljuk. Amint láttuk, az enzimszintézis indukciójának, repressziójának a tanulmányozása, valamint az allosztérikus kölcsönhatások felismerése a regulációs folyamatok megértését nagymértékben megkönnyítette.

Tisztában kell lenni azonban azzal, hogy az itt ismertetett elképzelések alapjául néhány jól ismert baktériumtörzsön végzett kísérletek szolgáltak. Bár semmi okunk nincs annak a feltételezésére, hogy egyéb törzsekben a viszonyok alapvetően eltérnének a tanulmányozott baktériumokétól,mégis óvatosnak kell lennünk, ha általánosítani akarunk. Különösen gondos körültekintéssel kell eljárnunk akkor, ha a baktériumok regulációs folyamatait a magasabbrendű élőlények világában analógiaként kívánjuk felhasználni. Mégis minden óvatosság ellenére is kiemelhetjük a bemutatott regulációs lehetőségek néhány jellemző vonását, amelyek kétségtelenül általános biológiai jelentőséggel bírnak.

1. Regulátor- és struktúrgének valószínűleg nemcsak a baktériumok világában léteznek s ilyenformán az enzimszintézis genetikai szinten történő szabályozása más rendszerekben is reális lehetőségnek látszik.

2. Az a szemléletmód, amely feltételezi, hogy a baktériumsejten belül a DNS molekulákban tárolt információ állandóan manifesztálódik ha nincs gátlás alatt, alapvető jelentőségű következtetéseket tesz lehetővé. Csak egy példa: Mi az oka annak, hogy a bakteriofágok, a növényi és állati sejtben szaporodó vírusok „erősebbek", mint a gazdasejt s a vírus által tárolt programokat valósítja meg a fertőzött sejt?

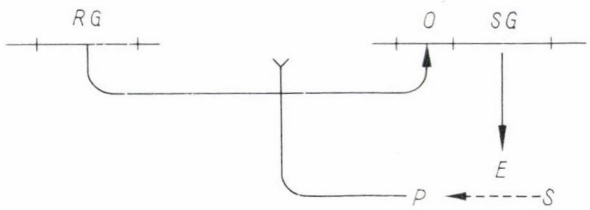
Az említett szemlélettel vizsgálva a kérdést azt mondhatjuk, hogy a vírus és gazdasejt DNS-e között nincs minőségi különbség, alá- és fölérendeltségi viszony. Mindkettőben tárolt információk állandóan manifesztálódhatnak. A sejtben jelenlevő regulációs körök azonban különböző gátlásokat okoznak, amely az információk koordinált manifesztációját teszi csak lehetővé normális körülmények között. A sejtbe bejutott vírus eredetű DNS információk azonban nincsenek gátlás alatt, azért az azokban programozott információk manifesztálódnak. Ilyen értelmezésben a vírusok problémája pl. regulációs problémává válik.

3. Az allosztérikus kölcsönhatások legjellemzőbb sajátosságaként említhetjük meg, hogy az enzimmolekula aktivitását befolyásoló effektorok (inhibitor, vagy aktivátor) semmi rokonságot vagy hasonlóságot nem mutatnak az enzimre specifikus szubsztrátummal. Ez a tény azt jelenti, hogy a legkülönbözőbb biokémiai folyamatok intermedier termékei más vonatkozásban reguláló szerepet játszhatnak. A különböző biokémiai folyamatok közötti koordináció kérdése ilyen módon materiális alapot nyerhet.

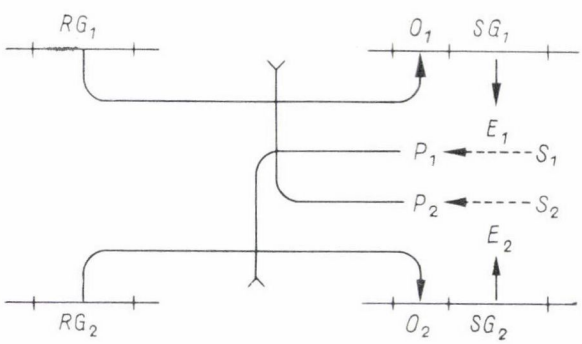
Az allosztérikus kölcsönhatások kérdéséről már ma is biztonsággal állíthatjuk, hogy érvényességi köre túl terjed a baktériumok világán. Elég, ha csak arra utalunk, hogy az emlős májból izolált glutaminsavdehidrogenáze enzim, amelynek molekulasúlya 1 000 000, szteroid hormon hatására 250 000 mól súlyú egységekre esik szét s ezek a molekulák alanin-dehidrogenáz aktivitást mutatnak. Különböző effektorok hatására (ADP, DPN) a molekula újra polimerizálható s az eredeti aktivitás visszatér [37, 38].

Allosztérikus kölcsönhatásként fogható fel pl. a haemoglobinmolekula O_2 hatására bekövetkező reverzibilis változása is, ami a szervezet oxigénellátásának egyik alapvető mechanizmusát biztosítja [23].

Bármennyire óvatosak is vagyunk tehát a bakteriális rendszerekben kapott eredmények általánosítását illetően, mégis azt kell mondanunk, hogy



4. ábra. Az RG regulátorgén által specifikált represszor az E enzim S szubsztrátumából keletkező P produktumával inaktiválható. Ha a rendszer működik, ameddig az S szubsztrátum rendelkezésre áll, mindig aktív marad, önmagát egyensúlyban tartja. Ha azonban az S szubsztrátum elfogy, az enzimszintézis leáll végérvényesen (39)



5. ábra. Az RG_1 regulátorgén által specifikált represszor az E_2 enzim aktivitásának eredményeként keletkező P_2 produktummal inaktiválható. Az RG_2 regulátorgén által specifikált represszor pedig a P_1 produktummal. A két enzim szintézise tehát kölcsönösen egymástól függ (39)

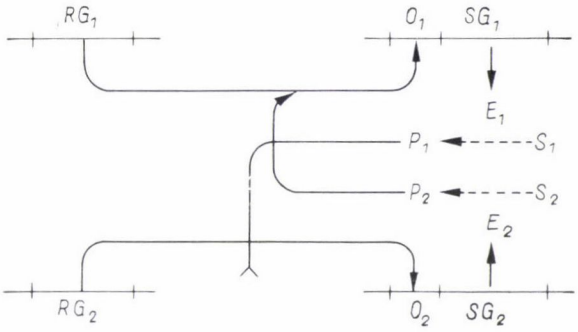
azok ismerete a legkülönbözőbb munkaterületeken dolgozó szakemberek számára hasznosak lehetnek.

Végezetül néhány elméletileg konstruált regulációs rendszert mutatunk be, amelyek Monod és Jacob 1961-ben megjelent egyik közleményében találhatók [39].

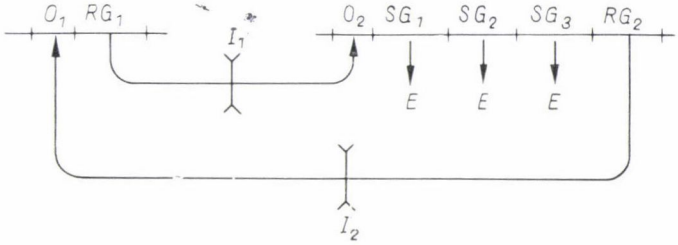
A 4. ábrán bemutatott rendszer, ha a szubsztrátum rendelkezésre áll, önmagát állandóan aktív állapotban tartja. Az 5. ábrán látható enzimek csak egymás jelenlétében szintetizálódhatnak s bármelyik szintézisének a megszűnése automatikusan a másik szintézisének a megszűnését is eredményezi. A 6. ábrán látható rendszerben, feltéve, ha megfelelő sebességű enzim és produktum szétesést feltételezünk, a két enzim szintézise alternálóan megy végbe. Végezetül a 7. ábrán a rendszer az egyik vagy másik induktor átmeneti jelenlétében

aktív vagy inaktív állapotba hozható attól függően, hogy a rendszer aktív vagy inaktív állapotából indulunk ki.

Ha áttanulmányozzuk a bemutatott regulációs köröket kiderül, hogy bármennyire elméleti alapon vannak is azok összeállítva, hasonló regulációs folyamatok a sejtekben, sőt az ontogenezis folyamán is végbemennek. Ezekhez



6. ábra. Az RG_1 regulátorgén által specifikált represszort a P_2 produktum aktiválja. Az RG_2 regulátorgén által specifikált represszort a P_1 produktum inaktiválja. A két enzim szintézise egymást felváltva történhet (39)



7. ábra. Az RG_1 regulátorgén által specifikált represszor az O_2, SG_1, SG_2, SG_3, RG_2 operon működését gátolja. Az RG_2 regulátorgén által specifikált represszor viszont az O_1 operátor lokuszon keresztül az RG_1 gén működését gátolja. Ha az RG_1 gén működik, az O_2 operon gátolt állapotban van. Ha a rendszer rövid időre is az I_1 anyaggal kerül kapcsolatba, az a represszort inaktiválja s az O_2 operon működni kezd. Az O_2 operonban helyet foglaló RG_2 gén által specifikált represszor viszont a továbbiakban állandóan gátlás alatt tartja az RG_1 gén működését. Az O_2 operon működése csak akkor szűnik meg, ha az I_2 anyag a rendszerben megjelenik s az RG_2 gén által specifikált represszort inaktiválja (39)

hasonló modellek az ismert alkotóelemekből tetszés szerinti számban és összefüggésben konstruálhatók s nem lehetetlen, hogy ilyen modellek konstruálása és kísérletes ellenőrzése nagymértékben elő fogja majd segíteni a sejtekben lejátszódó koordinált folyamatok regulációjának a megértését.

IRODALOM

1. F. Jacob., J. Monod: J. Mol. Biol. **3,** 318 (1961).
2. H. Karstrom: Ergebn. Enzymforsch. **7,** 350 (1938).
3. R. Y. Stanier: Ann. Rev. Microbiol. **5,** 35 (1951).

4. J. Monod, M. Cohn: Advances in Enzymol. **13,** 67 (1952).
5. M. Cohn, A. M. Torriani: J. Immunol. **69,** 471 (1952).
6. B. Rotman, S. Speigelman: J. Bact. **68,** 419 (1954).
7. H. J. Vogel: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **43,** 491 (1957).
8. F. Jacob, J. Monod: Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. **26,** 193 (1961).
9. M. Nomura, B. D. Hall, S. Spiegelman: J. Mol. Biol. **2**, 306 (1960).
10. S. Brenner, F. Jacob, M. Meselson: Nature **190,** 576 (1961).
11. F. Gros, W. Gilbert, H. H. Hiatt, G. Attardi, P. F. Spahr, J. D. Watson: Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. **26,** 111 (1961).
12. S. Brenner: Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. **26,** 101 (1961).
13. J. Davies, W. Gilbert, L. Gorini: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **51,** 703 (1964).
14. R. N. Ames, P. E. Hartman: Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. **28,** 349 (1963).
15. J. Beckwith: Biochim. Biophys. Acta **76,** 162 (1963).
16. G. S. Stent: Science **144,** 816 (1964).
17. R. B. Roberts, P. H. Abelson, D. B. Wowie, E. T. Bolton, R. J. Britten: Carnegie Inst. Wash. Publ. No. 607 (1955).
18. H. E. Umbarger: Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. **26,** 301 (1961).
19. J. C. Gerhardt, A. B. Pardee: J. Biol. Chem. **237,** 891 (1962).
20. J. C. Gerhardt, A. B. Pardee: Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. **28,** 491 (1963).
21. J. P. Changeux: Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. **26,** 313 (1961).
22. J. Monod, J. P. Changeux, F. Jacob: J. Mol. Biol. **6,** 306 (1963).
23. J. Monod, J. Wyman, J. P. Changeux: J. Mol. Biol. **12,** 88 (1965).
24. H. E. Umbarger, B. Brown: J. Bact. **73,** 105 (1957).
25. E. R. Stadtman, G. N. Cohen, G. LeBras, H. de Robichon-Szulmajszter: Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. **26,** 319 (1961).
26. F. C. Neidhardt, D. G. Fraenkel: Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. **26,** 63 (1961).
27. F. Gros, F. Gros: Biochem. Biophys. Acta **22,** 200 (1956).
28. E. Borek, A. Ryan, J. Rockenbach: J. Bact. **69,** 460 (1955).
29. G. S. Stent, S. Brenner: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **47,** 2005 (1961).
30. L. Alföldi, G. S. Stent, R. C. Clowes: J. Mol. Biol. **5,** 348 (1962).
31. C. G. Kurland, O. Maaløe: J. Mol. Biol. **4,** 193 (1962).
32. O. Maaløe: Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. **26,** 45 (1961).
33. O. Maaløe: J. Mol. Biol. **3,** 144 (1961).
34. J. Cairns: J. Mol. Biol. **6,** 208 (1963).
35. J. Cairns: Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. **28,** 43 (1963).
36. F. Jacob, S. Brenner, F. Cuzin: Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. **28,** 392 (1963).
37. G. M. Tomkins, K. L. Yielding: Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. **26,** 331 (1961).
38. G. M. Tomkins, K. L. Yielding, N. Talal, J. F. Curran: Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. **28,** 461 (1963).
39. J. Monod, F. Jacob: Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. **26,** 389 (1961).

A MAGASABBRENDŰ SZERVEZETEK MUTÁCIÓS JELENSÉGEI

BÁLINT ANDOR

Agrártudományi Egyetem Növénynemesítési Tanszék, Gödöllő

Bevezetés

Az atomenergia békés felhasználására irányuló kutatómunka az elmúlt évtizedben nagymértékben hozzájárult a mutációs kutatások kiterjedéséhez. Nem kismértékben fejlődött a különböző kémiai vegyületek mutagén hatásának a tanulmányozása is. Az elmélet fejlődéséhez a molekuláris genetikai kutatások ismert eredményei új utakon való elindulást biztosítottak.

Az elméleti sikerek mellett gyakorlati vonatkozásban is több eredményről számolhatunk be. Különösen az antibiotikumtermelő gombák nemesítése mutathat fel nagy eredményeket, de egyre több mutációs alapon előállított növényfajta is van. Megkezdődtek a próbálkozások az állatnemesítés vonalán is.

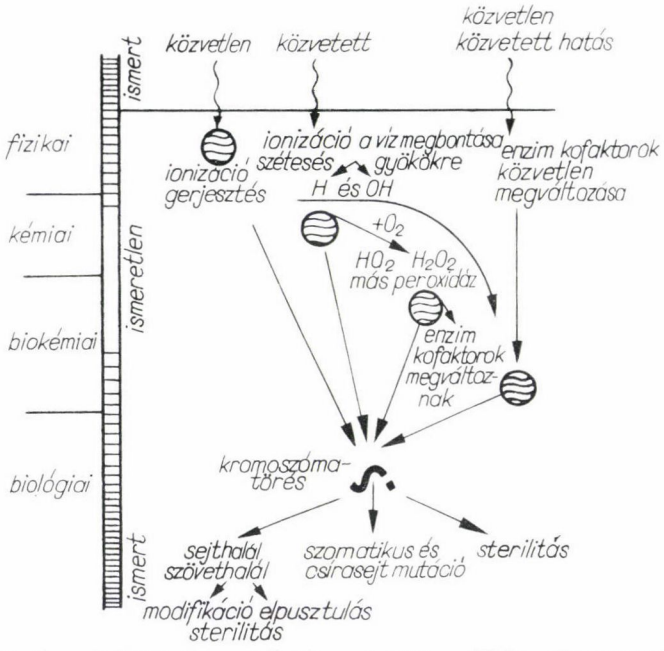
A ma már áttekinthetetlenné fejlődött kutatási területről nehéz olyan összefoglalást adni, amely az elmélet fejlődésének és a gyakorlati alkalmazásnak minden kérdését érinti. Ezért — önkényesen összeválogatva — kívánok a továbbiakban a terület helyzetéről tájékoztatást nyújtani.

A mutációs elmélet néhány kérdése

A mutánsok létrejöttének mechanizmusa. A természetben spontán átlag 10^{-6} gyakorisággal létrejövő mutánsok (az egyes dísznövények, gyümölcsváltozatok, törpe kutya, juh mutánsok stb.) keletkezésének feltételei sok vonatkozásban ma sem ismertek és sokszor nem tudjuk, hogy a külső és belső feltételek milyen változása hozott egy-egy új formát létre. Ma már a jelenséget az indukált kémiai mutánsok tanulmányozása alapján nyert adatok (peroxidok felhalmozódása a növények szerveiben, egyes alkaloidok, a hosszabb ideig tárolt dohánymagvakból kipréselt olaj, a mustárolaj stb. automutagén hatása (D'AMATO—HOFFMAN-OSTENHOF, 1956) és a molekuláris genetikai vizsgálatok teszik érthetővé anélkül, hogy az egyes esetekben lejátszódó jelenségeket pontosan ismernénk. Amikor indukált mutánsokat röntgenbesugárzással kezdtek előállítani, magyarázatot kerestek ezek mutagén hatására. Az első elmélet a TIMOFÉEFF—RESSOVSKY és ZIMMER (1935, 1947) nevéhez fűződő találat-elmélet (target vagy treffer hipotézis). Eszerint — a mai értelmezésben

— egy ionizáló részecskének közvetlenül a DNS molekulával való összeütközése vezet öröklődő változásokra.

A találat-elmélet szerint a mutációs rátának a dózisok növekedésétől várt emelkedése nem minden esetben következett be. A víztartalom sugárérzékenységet növelő hatásának és egyéb vizsgálatok alapján kidolgozott ún. indirekt elmélet (Weiss, 1944) értelmében a sugarak közvetve, a víz és oxigén



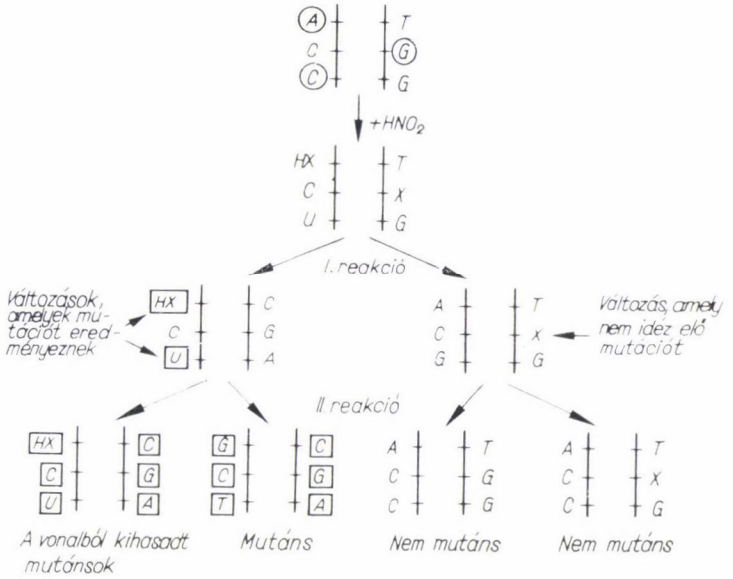
1. ábra. A biológiai sugárhatás reakciólánca (Fritz—Niggli. 1959)

ionizációja útján hatnak, közvetett fizikai hatásuk mellett. Ezt mutatja be az 1. sz. ábra (Fritz-Niggli, 1959).

Az ionizáló sugárzás behatol a biológiai anyagba, annak atomjaival és molekuláival kölcsönhatásba lép (fizikai szféra). A besugárzott rész ennek hatására lehetséges, hogy közvetlen változáson megy keresztül. Ugyanakkor gyakran köztes termékek keletkeznek, főleg a besugárzott víz disszociációja útján (kémiai szféra), H^+- és OH^--gyökök, amelyek képesek az enzimek és az adott szövetek megváltoztatására. Emellett a gyökökből aktív vegyületek (H_2O_2, HO_2 és más peroxidok) is képződnek, amelyek szintén képesek az enzimek és a besugárzott szervek működésén változtatni (biokémiai szféra). A kromoszómák megváltoztatása közvetlenül, vagy az enzimek elroncsolásán keresztül különböző biológiai jelenségeket (sokszor pusztulást) idéz elő (biológiai szféra).

BARRON (1946) megállapította, hogy a mustárnitrogén és a röntgensugarak hatása nagymértékben hasonló, amit a találat-elmélettel nem lehet megmagyarázni.

A közvetett hatás szép bizonyítéka STONE et al. (1947) kísérlete. A táptalaj UV-besugárzásával sikerült nekik a *Staphylococcus aureus*ban a mutációk gyakoriságát növelni. A közvetett és közvetlen hatások összességükben a



2. ábra. A bázis sorrend változása a DNS-ben HNO_2-vel való kezelés után és a DNS reprikációja (vázlat) (Alihanján, 1963) — Jelmagyarázat: A = adenin; C = citozin; X = xantin; T = timin; U = uracil; G = guanin; HX = hipoxantin; A körrel jelzett bázisok reakcióba léptek a HNO_2-vel

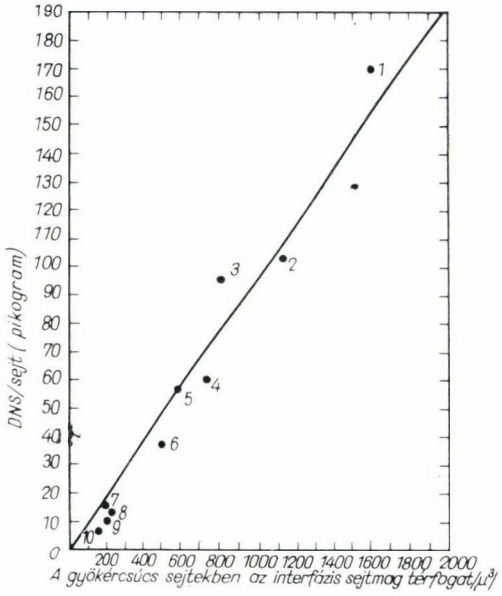
kód- és ezen keresztül az aminosavösszetétel megváltozására vezetnek (ALICHANJAN, 1964, FREESE, 1963). Ennek menetét a 2. sz. ábrán mutatjuk be.

E vizsgálatok megindításához HERSHEY és CHASE (1955, in FREESE, 1963) felfedezése adott indítékot, aki a T_2 fagról kimutatta, hogy csak DNS-t injektálja a baktériumba és ezen keresztül közvetlenül ki lehetett mutatni a fág DNS-e megváltozásának genetikai következményeit.

A magasabbrendű növényekben a kromoszómaméret és a metafázis időtartamának a sugárérzékenységgel való kapcsolatát már régóta ismerik (MARSCHAK, 1937, NYBOM, 1956 és mások). Többen, MAC KEY, 1959, SPARROW et al., 1963, SWANINATHAM, 1964 foglalkoztak a diploid és poliploid formák sugárérzékenységének összehasonlító vizsgálatával is. Mindezek az adatok — az összefüggések pontos ismerete nélkül is — a DNS-tartalom és a sugárérzékenység közötti összefüggésre utaltak. A jelenség részletes tanulmányozása

SPARROW (1961, 1964) és munkatársai nevéhez fűződik, akik pontos mennyiségi összefüggést állapítottak meg 73 növényfajon végzett vizsgálat alapján a DNS-tartalom és a sugárérzékenység között. 10 fajra megállapították a DNS-tartalom és a sejtmagméretek közötti összefüggést (3. sz. ábra) is.

Az ábra utal a két tényező erős kapcsolatára, de az eltérésekre is. Ezért SPARROW et al. (1961) az összefüggések pontosabb megállapíthatósága érdeké-



3. ábra. A sejtmagtérfogat és a sejtenkénti DNS mennyisége közötti kapcsolat (Sparrov et al. 1964)

ben interfázis kromoszómák térfogata és a sugárérzékenység kapcsolatát vizsgálták, mivel a DNS-tartalom és az interfázis kromoszómák térfogata szorosabban függ össze egymással, mint a DNS-tartalom és a sejtméret. Az LD_{100}, továbbá a növekedést gyengén és erősen akadályozó dózist alkalmazva (a gyökértenyészőkúp sejtjeit elemezték) meghatározta a sejtmag, a kromoszómák térfogatát, ezek DNS-tartalmát, a Co^{60}-nal végzett gammabesugárzásnak (akut és krónikus) a sejtmag és az egyes kromoszómák által elnyelt részét lágy- és fásszárú növényeken (erdei fákon). Kísérleteik néhány adatát az alábbi táblázaton mutatjuk be (1. sz. táblázat). Ezek az adatok azt mutatják, hogy az egyes fajokban a letalitás eléréséhez szükséges kromoszómánként elnyelt dózis viszonylag nem mutat nagy különbségeket (+ és — 100 százalék az átlaghoz képest), ha az LD_{100} eléréséhez szükséges dózisok 100-szoros különbségeihez viszonyítjuk (csíranövényeket kezeltek). Ugyanilyen arányú letalitás eléréséhez 12 erdei fafajon végzett vizsgálat alapján (2. sz.

táblázat) jóval (kb. 2,5 kevesebb) energia elnyelése szükséges (pedig a vizsgálatokat 3—5 éves fákon végezték).

1. táblázat

Néhány lágyszárú növényfaj interfázis kromoszómatérfogata, ezek DNS-tartalmának összefüggése a letális (LD_{100}) dózissal (SPARROW et al. 1964 adataiból összeállítva)

Növényfaj és kromoszómaszáma (2n)	Kromoszómatérfogat (mikron ± s. e.)	DNS-tartalom (pikog.)	Elnyelt energia (keV)**	LD_{100} dózis (ke)
Trillium grandiflorum	145,19 ± 8,142	13,97	5009	0,60
Podophyllum peltatum	93,16 ± 4,746	8,97	4018	0,75
Hyacinthus orientalis (22)	65,12 ± 3,637	6,27	3744	1,00
Lilium longiflorum (24)	52,18 ± 1,758	5,02	2400	0,80
Chlorophytum elatum (28)	15,08 ± 0,985	1,45	1734	2,00
Zea mays HV. Golden *Bantam* (20)	13,95 ± 0,691	1,34	3209	4,00
Aphanostephus skirrobasis (6)	11,19 ± 0,900	1,08	5147	8,00
Crepis capillaris (6)	10,59 ± 0,824	1,02	2284	3,75
Sedum ternatum (U643/32)	4,64 ± 0,194	0,45	6670	25,90
Gladiolus HV. Friendship (360)	4,56 ± 0,156	0,44	6555	25,00
*Mentha spicata** (34)	3,15 ± 0,177	0,30	5427	30,000
*Sedum oryzifolium** (20)	2,16 ± 0,132	0,21	2486	20,000
*Sedum tricarpum** (128)	0,69 ± 0,033	0,07	2985	75,000
*Sedum alfredi** (128)	0,61 ± 0,015	0,06	1755	50,000
Sedum rupifragum (136)	0,52 ± 0,025	0,05	2242	75,000
		Átlag	3711 ± 34	

* = poliploid
** = ionpáronként 32,5 eV és 1,77 ionizáció mikron^3-ként

2. táblázat

Néhány erdei fafaj sejtmag és interfázis kromoszómatérfogata, az LD_{100} eléréséhez sejtmagonként és kromoszómánként elnyelt energia mennyisége (SPARROW et al., 1964)

Növényfaj kromoszómaszám (2n)	Sejtmag-térfogat (mikron^3)	Kromoszóma-térfogat (mikron^3)	LD_{100} (kr)	Elnyelt energia**	
				sejtmagonként (keV)	kromoszómánként (keV)
Picea glauca (24)	681,1	28,38	1,02	39,95	1665
Abies balsamea (24)	579,6	24,15	1,15	38,33	1697
Pinus strobus (24)	557,9	23,25	1,00	32,08	1337
Larix leptolepis (24)	542,8	22,62	1,25	39,02	1626
Sambucus canadensis (36)	462,3	12,84	2,00	53,17	1477
Taxus media HV. (24)	302,8	12,62	0,80	13,93	580
Thuja occidentalis (22)	167,8	7,63	1,50	14,48	658
Quercus rubra (24)	132,6	5,52	8,00	60,978	2541
*Fraxinus americana** (46)	157,2	3,43	10,00	90,40	1965
Acer saccharum (26)	82,9	3,19	8,00	38,17	1466
*Acer rubrum** (91)	240,8	2,65	10,00	138,45	1521
*Betula lutea** (84)	182,6	2,17	8,00	84,00	1000
			Átlag	53,6 ± 10	1453 ± 155

* = poliploid
** = ionpáronként 32,5 eV és 1,77 ionizáció mikron^3-ként

A kromoszómánként elnyelt energia a letális dózis értékszámai kisebb különbségeket mutatnak, mint ami a lágyszárú növényekben megfigyelhető. Összehasonlították a diploid és poliploid fajok kromoszómái által elnyelt energiamennyiséget a sugárérzékenységgel (l. 1—2. sz. táblázat, 4. sz. ábra).

Annak ellenére, hogy a kísérletben nagyszámú és magas szintű (8×től 22×) poliploid forma szerepelt, a poliploidokban nem volt statisztikailag megbízható különbség az elnyelt energia mennyiségében a diploidokhoz viszonyítva. Ez azt jelenti, hogy ilyen alapon számolva a di- és tetraploidok sugárérzékenysége nagyjából azonos. Mac Key (1958), Swaminatham (1964) adatai ezen megállapítás ellen szólnak. Swaminatham (1964) arra utal, hogy a kromoszómák hosszúsága is befolyásolja a sugárérzékenységet. Emellett egy-egy locus pl. egy tetraploid árpában négyszeresen szerepel, tehát kisebb a valószínűsége annak, hogy minden ponton azonos jellegű változás következik be. Sparrow (1964) arra utal, hogy a poliploidok általánosan várt nagyobb ellenállósága néha abból adódik, hogy az interfázisban kromoszómáik jobban megrövidülnek.

Az egyes fajoknál esetenként az átlagtól kiugróan nagy eltéréssel vannak. A *Trillium grandiflorum* és az *Arabidopsis thaliana*nak egyaránt 2n=10 kromoszómája van, mégis az előbbi 75-ször több DNS-t tartalmaz, mint ami az utóbbiban megállapítható. Puck (1959) invitró nevelt emberi, tyúk- és élesztő-sejtekben hasonló összefüggéseket állapított meg. Az ismertetett vizsgálatok a sejtmag és a sugárérzékenység mennyiségi kapcsolatát világították meg. A citoplazmában levő RNS, enzimek stb. — és keresztül valószínű, hogy a plazmát ért hatások is — közvetve — részt vesznek a mutációs változások kialakulásában. A jelenség tanulmányozása nem könnyű feladat. A genetikai hatások lemérése nélkül is figyelemre méltóak ebben a vonatkozásban Glubrecht (1964) vizsgálatai. Olyan készüléket szerkesztettek, amely lehetővé teszi, hogy az UV vagy röntgensugarat 1μ-átmérőre koncentráltan irányítsák az élő sejtekre. Arra is lehetőség van, hogy egy sejten belül tetszés szerint a sejtmagot vagy a citoplazmát sugározzák be. A kezelés hatását UV mikrospektrometriával határozták meg. A sejtmag- és a plazmakezelés hatását az 5., 6. sz. ábrák mutatják be.

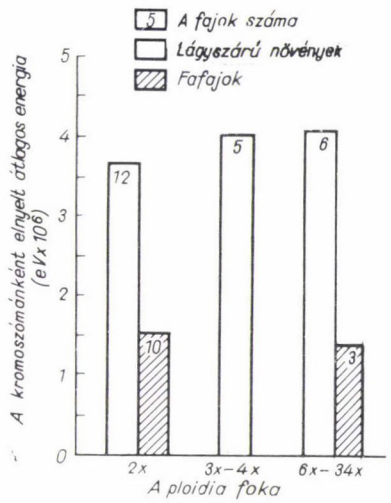
A sejtmag abszorpciós tulajdonságai akkor is megváltoznak, amikor csak a citoplazmát sugározzák be (5. sz. ábra).

Az ismertetett eredmények — besugárzást vagy kémiai mutagént használva — a „mechanizmus" alapjaira utaltak. Nem lehet emellett figyelmen kívül hagyni a kezelt objektum speciális genetikai sajátosságait, fiziológiai állapotát, az alkalmazott mutagén és a felnevelési feltételek speciális hatását sem.

Mutagének. Fő csoportjait ma is a sugárforrások és a vegyszerek alkotják, de mindkét területen bővülnek az alkalmazott eljárások. A fejlődés a kémiai mutagének területén látszik kimeríthetetlennek, de új forrásokkal a sugárzások területén is találkozunk.

Nem újonnan felfedezett mutagén, de az utóbbi időben szélesebb körben kerül alkalmazásra a látható fény. Hosszú ideig az volt a vélemény, hogy a látható fény fotonjai olyan kis (2 eV) energiával rendelkeznek, hogy mutagén hatás nem várható tőlük.

Doring (1938, in Dubinyin, 1961) fedezte fel az eozinnal megfestett *Neurosporán*, hogy a látható fény növelte a mutánsok keletkezésének gyakori-



4. ábra

ságát. Stubbe (1940) eozint juttatva az oroszlánszájba állapította meg a látható fény mutagén hatását. Luerch és Borschert (1949) in Dubinyin (1961), Drosophilan az akridinoranzs alkalmazásával ért el mutagén hatást. A baktériumokban Kaplan (1956 in Dubinyin, 1961) számol be hasonló eredményekről. Ezek közül statisztikailag csak Kaplan (1956) eredményei megbízhatók. Ezért — amint Dubinyin (1961) írja, — Hollaender (1955) kézikönyve csak az ultraibolyasugárzás mutagén hatásáról emlékezik meg.

Dubinyin és munkatársai (1961) a rivanol és a toluidinkék hatását vizsgálták sötétben, normális fényben tartott és bizonyos ideig megvilágított anyagon. Az egyik vizsgálat eredményét az alábbi táblázat szemlélteti (3. sz. táblázat).

Dubinyin (1961) véleménye szerint — az ultraibolyasugárzással nyert adatok alapján — teljesen valószínű, hogy a látható fény utóhatásaként ezekben az esetekben peroxidok keletkeznek, a festékekből felszabaduló molekuláris oxigénnel való egyesülés alapján.

Változatlanul sok kísérletben találkozunk a röntgen-, gammasugárzás, a gyors- és hőneutron izotópok segítségével a betasugárzás alkalmazásával is.

hasonlították ennek — és 100 r besugárzásnak a hatását. A vibráció 18,52 — a röntgenbesugárzás 16,92% aberráns anafázis és telofázis kialakulásához vezetett. Míg az előző kísérletben a hidak aránya a két kezelésnél teljesen azonos volt (6,70 és 6,67), itt ebben nagy eltérés (17,53%-a vibrátor és 9,54%-a röntgenbesugárzás hatására) mutatkozott. Ezek a kísérletek a vibráció jelentős szerepére utalnak.

3. táblázat

A rivanol fotodinamikai hatása a kromoszóma aberrációk alakulásaira (hagymagyökerekben). (DUBINYIN, 1961)

Kísérleti feltételek	Tanulmányozott anafázisok száma	Anafázisok kromoszóma aberrációkkal	
		számuk	%
Kontrol (fényben)	2637	31	1,18 ± 0,25
1/27.000 M rivanol oldat (sötétben tartott kontrol)	2638	35	1,32 ± 0,22
1/27,000 M rivanol oldat, 1 óra megvilágítás	1682	238	14,2 ± 0,85

GLEMBOCKIJ et al. (1962, in SZISZAKJAN, 1962) hasonló vizsgálatokat végeztek a világűrbe felküldött *Drosophilak* utódain. A D-32 és D-18-as törzsekben 0,56± 0,07 és 0,96± 0,16% volt a keletkezett recesszív letális mutánsok aránya (0,29± 0,10 és 0,41± 0,12 a kontrol). A növekedés viszonylag nem nagymértékű. Egy másik kísérletben 24 órás időközben 2-szer 15 perces vibrációs kezelést alkalmaztak (70 gc és 4 mm amplitúdó) és vizsgálták a letalis domináns mutánsok arányát. Ez az arány űrhajózásból visszatért állatok utódain 1,93 ± 0,52, a vibrátorba tettekén 2,28 ± 0,40% volt. A kapott eredmények hasonlók az egereken nyert tapasztalatokhoz.

SZIDOROV et al. (1962, in SZISZAKJAN, 1962) a nagyon sugárzékony *Allium fistulosum* és a rezisztens *Nigella damascena* magvain tanulmányozták az űrhajózás hatását. A csíragyökerek vizsgálata során a kezelt- és kontrol-anyagban megbízható különbség nem mutatkozott. GLEMBOCKIJ et al. (1962) vizsgálataikban a PPG-186-s búzafajta és a *Spartenet* borsófajta magvaiból nevelt csíranövényeken az aberrációk arányának statisztikailag megbízhatóan jelentkező növekedését tapasztalták. Más fajtákon kisebb mértékű stimuláció jelentkezett.

Actinomycetes törzsek közül az űrhajózás a sugárzásra rezisztens *Act. erythreus* 2577 életrevalóságát (a megmaradó spórák és a fejlődő kolóniák számát) a kontrolhoz viszonyítva hatszorosára növelte. A sugárzásra érzékeny törzs (8594-s) életrevalósága 1/12-ére csökkent. Az *Act. aureofaciens* 2201 törzs életrevalósága a kontrol 75%-a volt.

Az űrhajók oxigénellátása szempontjából *Chlorella* tenyészeteket is elhelyeztek a második szputnyik űrhajón. Az űrrepülés után a tenyészet foto-

szintetizáló-képessége kismértékben csökkent, bizonyos számú elpusztult sejtet is tartalmazott, de 6 nap múlva a tenyészet teljesen a kontrolhoz hasonlóan működött.

Ezekben a kísérletekben várható volt a kozmikus térség sugárzásbiológiai hatásának jelentkezése, de végeredményben a tényezők komplett jelentkezése új helyzetet jelent. Ezek között az egyes elemek (pl. a vibráció) hatásának elkülönített tanulmányozása arra utal, hogy egyes fizikai faktorok is hathatnak mutagén tényezőként. A földünkön működő hasonló berendezések (motorok, traktorok, fémmegmunkáló gépek stb.) hatásának tanulmányozása talán még munkaegészségügyi szempontból sem volna indokolatlan.

A *kémiai mutagének* listája évről évre gyarapodik. Néhány éve (1960) GUSTAFFSON összeállítása szerint magasabbrendű növényeken (főleg árpán) az X_2-ben kapott klorofil-mutánsok alapján a maximális értékek a következőképpen alakultak:

röntgenbesugárzás ...	6,8	etilénimin	33,0
neutronbesugárzás ...	10,0	glicidol	15,2
etilmetánszulfonát ...	50,4	etilénoxid	9,4
propilmetánszulfonát	25,4	dietilszulfát	10,0
metilmetánszulfát	11,1	formaldehid	0,5

Az újabb mutagének között nagyon hatékonyak a RAPAPORT és mutsai (1965) által alkalmazott vegyületek. Kísérleteikben az etilmetánurea alkalmazásakor 70.— a nitrozoetilurea esetén 56-, az 1-4-bis-diazoetilbután használatakor 35% és az etiléniminnél 10%-os mutációs arányt kaptak (árpa, borsó).

FAHMY et al. (1964) *Drosophilá*val végzett kísérleteiben fehérje (hiszton), nukleinsavak (DNS, RNS), polimetakril-, poliadenil- és poliglutaminsav mutagén hatását hasonlították össze.

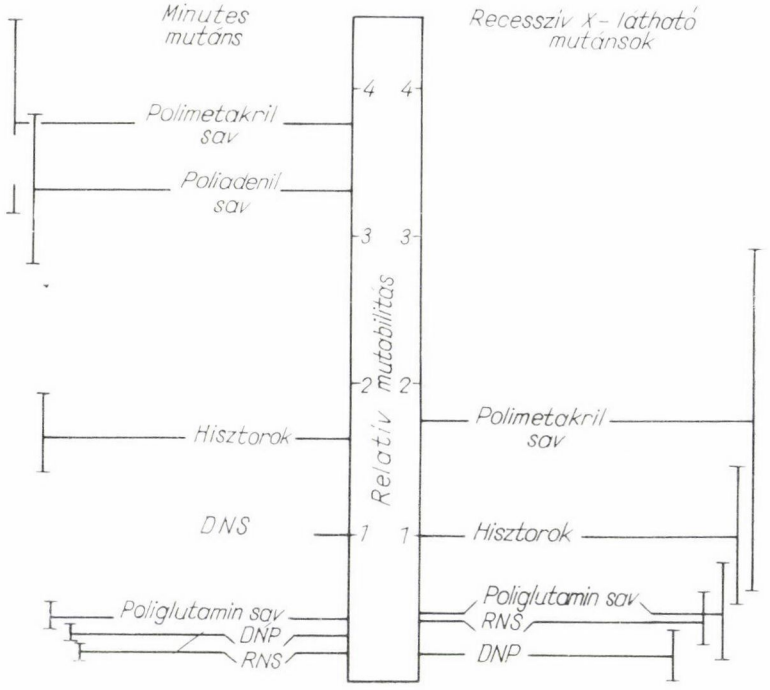
A hiszton, nukleinsav preparátumok a *Drosophila* spermából készültek. A mutagének viszonylagos hatékonyságát deletio eredményeként keletkező Minute autoszomális domináns- és kisebb mértékben azonosítható látható pontmutációk alapján állapították meg (7. sz. ábra).

Az adatok arra utalnak, hogy a DNS, illetve RNS-hez viszonyítva az alkalmazott nagy molekulájú vegyületek mindkét csoportban többszörös számú mutánst hoztak létre.

A rendelkezésre álló mutagének nagy számban teszik lehetővé számunkra a mutánsformák előállítását. Ezek nagy része különböző defektusokat (klorofildefekt, hím- és nősterilitás stb.) idéz elő. Külön kell megkeresni annak a lehetőségét, hogy nagyobb számban tudjunk — a gyakorlati feladatok megoldása céljából — életképes mutánsokat kapni (BÁLINT et al. 1965).

A fizikai és kémiai mutagének arra hívják fel a figyelmünket, hogy a természetben az ember, továbbá háziállataink, gazdasági növényeink érdekében

számoljunk az ismert és ismeretlen mutagén tényezők hatásával. A nagyvárosok levegőjét körülbelül 3000 különböző anyag szennyezi. Az atomipar, a vegyi konzerválószerek stb. egyaránt a mutagének számát növelik. Ehhez tenném hozzá kiegészítésként annak az amerikai vizsgálatnak az eredményét, amely kimutatta, hogy „dupla" mennyiségű kávé mutagén hatása 0,003 r-rel egyenlő (SHULL, 1962).

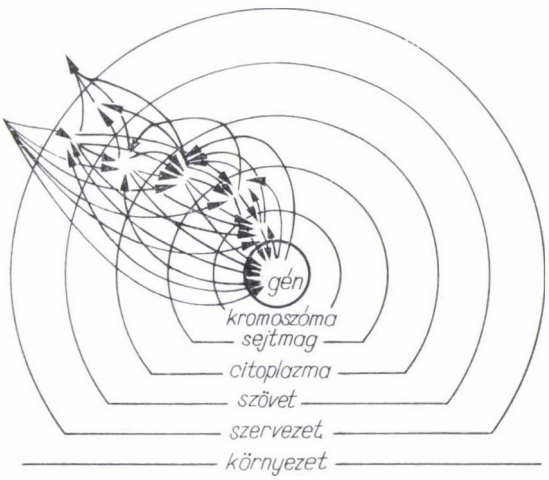


7. ábra. A makromolekulák DNS-hez viszonyított mutagenitása (ill. hatékonysága) (Fahmy et al. 1965)

A mutációs folyamat irányítása. Az indukált mutánsok előállítása után a különböző gyakorlati feladatok megoldására — az elméleti kutatások eredményei alapján — a folyamat tervszerű irányítása merül fel kutatási célként. Főleg az árpán nyert nagyszámú eredmény alapján ezt részben megoldottnak is tekintik (GUSTAFFSON, 1957). Előrebocsátva azt, hogy a problémát nem látjuk ennyire optimistán, néhány adatra fel kívánjuk hívni a figyelmet.

ALICHANJAN (1964) bemutatott táblázata szerint egy mutagén egy-egy bázisra hatva azonos jellegű változásokat okoz. Ismeretesek bázisanalógok (FREESE, 1965), amelyek eltérő kémiai felépítésük ellenére is képesek egy-egy bázist a kódban helyettesíteni. Ismeretes olyan mutagén, például a nitroso-etil-uretán (GRANT et al. 1965, 2), amely csak a szaporodó sejtmagban idézi elő a kromatidák aberrációját. Itt bizonyos részfolyamatok megismételhető meg-

változásairól van szó. Ennek ellenére a jelenség összefüggések, a folyamatok kölcsönhatásának ismeretén alapuló irányítása nagyon nehéz feladat. Ennek megértéséhez elég egy pillantást vetnünk WEISS (1959) ábrájára (8. sz. ábra), amely a magasabbrendű élőlények fejlődésének, az élőlények és a szervezet kölcsönhatásának különböző szintjeire hívja fel a figyelmet. Ez arra utal, hogy az információ primér változásain kívül jelentkezhetnek az egyedfejlődés során olyan tényezők, amelyek a mutagén hatását változtatás nélkül érvényre juttatják, erősítik vagy megsemmisítik.



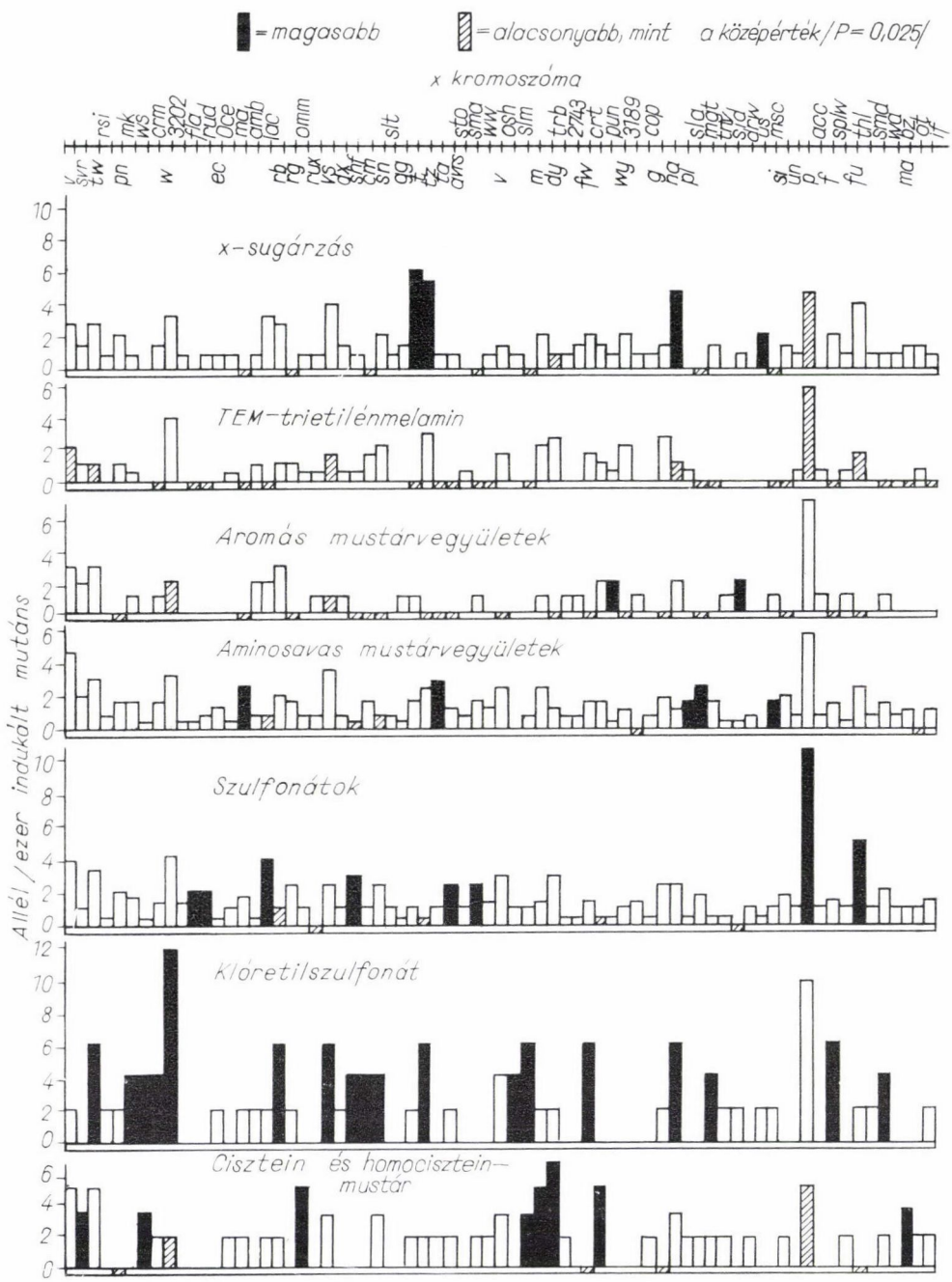
8. ábra. A szerveződés különböző szintjei az élőlényekben (Weiss, 1959)

A különféle mutagének specifikus hatását sokoldalúan vizsgálta FAHMY et al. (1965) a *Drosophila* X-kromoszómáján. A kapott eredményekről a 9. sz. ábra tájékoztat.

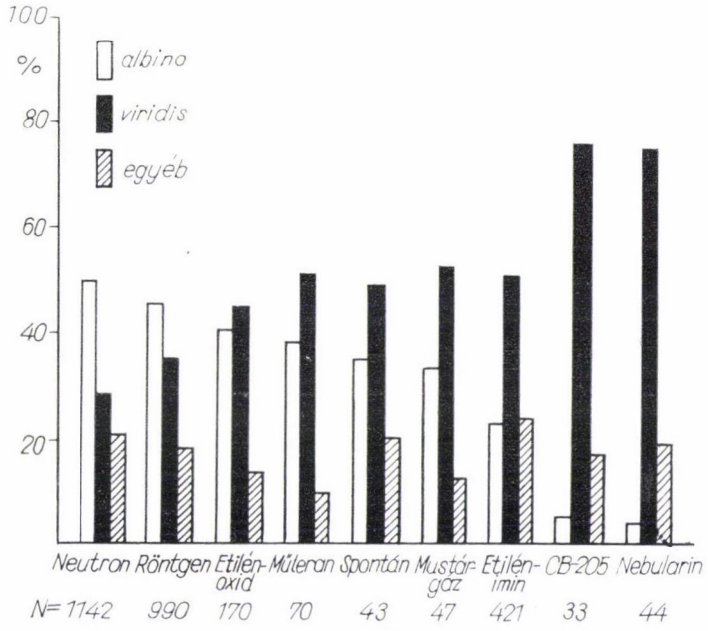
Az eredmények kromoszómarégiók, allélok és suballélok szintjén utalnak az egyes faktorok eltérő hatására. Gazdasági növényeink közül az árpán végeztek hasonló vizsgálatokat a (WETTSTEIN et al. 1960) (10. sz. ábra).

Az ábra adatai jól mutatják a klorofilmutánsok különböző típusainak megoszlását. A vitális mutánsok típusainak megoszlásáról sajnos nincsenek hasonló adataink. Különösen vonatkozik ez a kvantitatív jellegek változásaira.

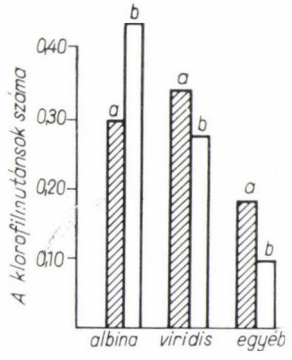
AUERBACH (1965) magasabbrendű növényi szervezetek mutációs folyamatainak tervszerű befolyásolására a közvetett tényezők hatásának fokozottabb felhasználására buzdít. Ezek nagyon sokfélék és sokféle a hatásuk is. GAUL (1963) kísérleteiben a virescens klorofildefektes mutánsban az alacsony (nappal 8, éjjel 8 °C) hőmérsékleten nem volt semmi klorofil, a magas (25 °C állandóan) teljesen normális volt a növény. Más mutánsok (ugyanilyen típus) részben megegyezően, részben eltérően viselkedtek. Egy másik mutáns hidegben világoszöld, striata (csíkozott) leveleket képez, normális hőmérsékleten



9. ábra. 71 specifikus locus különböző mutabilitása (Fahmy et al. 1965)



10. ábra. A spontán és különböző mutagének felhasználásával indukált klorofilmutánsok megoszlása (Wettstein, Gustafsson, Ehrenberg, 1960)



11. ábra. A melegágyi előnevelés — és a közvetlen szabadföldbe vetés hatása a különböző típusú klorofilmutánsok gyakoriságára (az előnevelt növényekben 1108, a közvetlen szabadföldbe vetettekben 730 mutáns volt) (Gaul, 1957) *a* = melegágyi vetés, *b* = szabadföldi vetés

teljesen szabályos a klorofilképződés. Először melegben, majd hidegben tartva a mutáns csíranövényeket, az első és második levél normális, a harmadikon már megjelenik a klorofildefektus.

Változik a mutánsok megjelenésének aránya akkor is, ha melegágyban előnevelt árpanövényeket hasonlítunk a közvetlenül szabadföldbe vetettekkel össze (11. sz. ábra).

Az ábrán látható, hogy az albino mutánsok arányát a szabadföldi, a másik két csoportét a melegágyi vetés befolyásolja kedvezőbben.

JANUSKEVICS (1961) a *Viner* tavaszi árpafajta különböző termőhelyről származó tételeit besugározva (4. sz. táblázat) szintén lényeges eltérést állapított meg.

4. táblázat

A kromoszóma aberrációk számának alakulása a *Viner* tavaszi árpafajta gyökérsejtjeiben

Variáns	A vetőmag eredete	A vizsgált sejtek száma	A fragmentumok %-a	Hidak %-a	Az anomáliák teljes %-a
10 000 rel	Odessza	721	7,5	4,6	12,1
Besugározva	Moszkva	616	15,6	11,3	26,9
Besugárzatlan	Odessza	692	0,4	0,1	0,5
Kontrol	Moszkva	782	0,2	0,1	0,3

Ezek az adatok a termőhely által előidézett fiziológiai állapot figyelembevételére hívják fel a figyelmet.

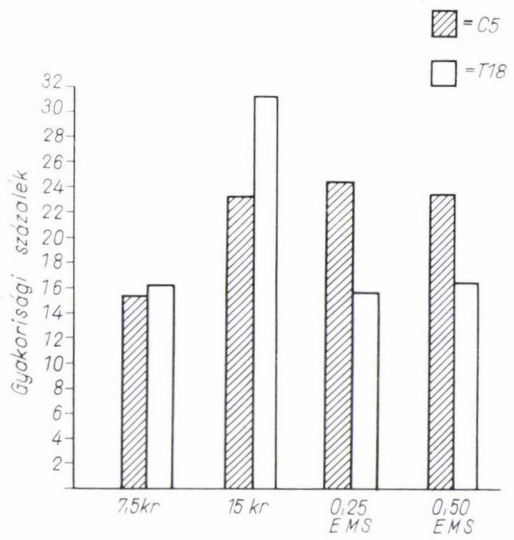
SZILÁGYI (1964) vizsgálatai búzán a jarovizációs stádium egyes szakaszaiban történő sugárhatásbeli különbségekre mutattak rá.

Saját kísérleteinkben (BÁLINT et al. 1964) a C5 sárga lófogú és a T18 fehér lófogú kukoricavonal röntgen- és EMS-érzékenységét hasonlítottuk össze (7,5 és 15 kr, illetve 0,25, 0,50%-os oldat). A növekvő dózisok mindkét törzsben növelték az aberrációk mennyiségét. A sugárkárosodás mértéke a nagyobb csírájú T18-as törzsben felülmúlja a C5 törzs értékét. (A szemsúlyhoz viszonyított csírasúly %-os értéke a T18 vonalban 21,03, a C5-ben csak 8,45%.) Az EM-sel történő kezelés ellentétes eredményt adott. A két koncentráció nem változtatott lényegesen az aberrációk arányán, viszont a T18 vonal értékszámai jóval alatta maradtak a C5-nél megfigyelt változásoknak.

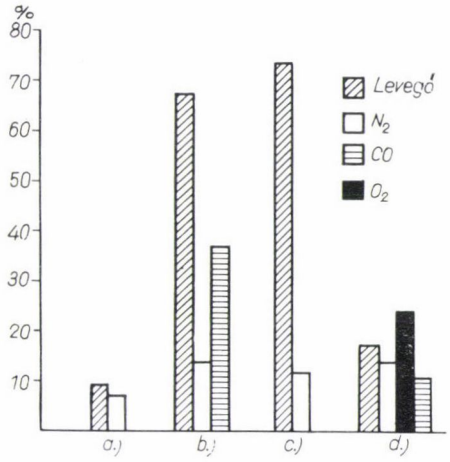
A vizsgálatok eredményeit a 12. sz. ábrán mutatjuk be.

Sok vizsgálat tisztázta az oxigénhiánynak, a kis víztartalom, alacsony hőmérsékletnek a mutagén hatását csökkentő, a bőséges oxigénellátottságnak, a magasabb víztartalomnak (pl. magvakban), a magasabb hőmérsékletnek a mutagének hatását erősítő szerepét. Egyik *Drosophilá*val végzett hasonló jellegű kísérlet eredményét a mellékelt (13. sz.) ábra szemlélteti.

Egészségvédelmi szempontból különösen jelentősek azok a kutatások, amelyek az emlősökön a sugárkárosítások lényeges csökkentését eredményezték (IGALI, 1964). Ennek eredményeként pl. a kontrol fehér egereket 100%-ban elpusztító sugáradag a ciszteamin adagolás után az állatok 42, reszerpin adagolás után csak 6, szerotonin adagolás után csupán csak 4%-át ölte meg.



12. ábra. A kromoszóma aberrációk arányainak megoszlása különböző mutagénekkel kezelt kukoricavonalakon



13. ábra. A sugárzás által indukált domináns letalis mutációk rátájának függése a környezet faktoroktól és a besugárzott ivarsejtek fejlődési stádiumától Drosophila melanogasterban. *a* = 0—4 órás lárvák, *b* = 0 órás előbábok, *c* = 48 órás bábok, *d* = érett egyedek (Fritz—Niggli, 1959)

Gyakorlati alkalmazások

A mutagének hatására bekövetkező kvalitatív és kvantitatív megváltozások a genetikai variabilitás szélesítésével növelik a növény- és állatnemesítő szelekciós lehetőségeit. A kapott hasznos kvalitatív változatok kiemelése

könnyebb, és ha homozigóta formában jelenik meg előttünk, továbbvitele sem okoz nagyobb nehézséget. A kvantitatív jellegek változásának elemzése variációs sorok és a megváltozások öröklődési viszonyainak (h^2-értékszám) tanulmányozását is megköveteli. Az ezekhez csatlakozó szelekciós eljárások teszik lehetővé a gyakorlatban is hasznosítható formák előállítását.

A különböző kísérletek azt mutatták, hogy a magasabbrendű növényi szervezeteknek nincs egyetlen olyan tulajdonsága sem, amely megváltozásának a gyakoriságát ne lehetne mutációs módszerekkel fokozni.

Ez a javulás több nagyságrenddel marad el az antibiotikumtermelő gombák nemesítési eredményeitől. (Fleming törzsei 1928-ban 1 ml oldatban 10 NE penicillint termeltek, ma a legjobb törzsek ennek 500-szorosát adják.) A virágos zöld növények közül a legnagyobb eredményt eddig az *Arabidopsis thalianán* Rédei (1962) érte el. 8—12 000 röntgenkezeléssel (a magvakat sugározta be) olyan mutánsokat kapott, amelyek tenyészideje négy, hatszor hosszabb lett a kiinduló típusnál, de ugyanakkor a szárazanyag-felhalmozódás több mint hússzorosra, a magtermés tízszeresre nőtt. A tenyészidő ily mértékű meghosszabbítása gazdasági növényeinknél egyelőre lehetlennek tűnik, de mégis a lehetőségek több irányú vizsgálatára hívja fel a figyelmet. Ma már az is ismeretes előttünk, hogy egyes tulajdonságok megváltoztatása mutagénekkel könnyebben, másoké nehezebben oldható meg. A nemesítő számára az alkalmazott módszerek megválasztásánál alapvető szempont az, hogy milyen valószínűséggel és mennyi idő alatt várhatja az alkalmazott eljárástól célkitűzései megvalósítását.

Ha ilyen alapon hasonlítjuk össze a mutációs úton előállított alapanyagból nyert fajták számát pl. a keresztezéses származékok produktivitásával, akkor csak ezrelékekben kifejezhető értékszámhoz jutunk a mutánsok terhére. Külföldön a rendelkezésre álló adatok szerint eddig 18 indukált mutáns alapanyagból létrehozott fajta szerepel a köztermesztésben, ami nem túlzottan jelent nagy számot. Ezek a fajták a következők: szilárd szalmájú *Pallas* árpa (Svédország 1958, alacsony korán érő *Mary* árpa) Svédország 1961, lisztharmattal szemben ellenálló *Vienna* árpa (Ausztria 1959), szilárd szalmájú, erősebben télálló *Jutta* őszi árpa (NDK, 1960), a koronarozsdával szemben ellenálló rövidszalmájú, termőképesebb *Florad* zab (USA, 1961), betegségekkel szemben ellenálló *Alamo* zab (USA, 1961). *Pennrad* erősebben télálló őszi árpa (USA, 1963). Termőképesebb *Strol* borsó (Svédország, 1957), termőképesebb *Shefferce — Universal* bab (Svédország, 1950), a gabonabetegségekkel szemben ellenálló koránérő *Sanilac* bab (USA, 1956), babmozaikkal szemben ellenálló korai *Seaway* bab (USA, 1960), a mozaikkal és antakrozissal szemben ellenálló korai *Gratitot* bab (USA, 1963), *Primex* fehér mustár (Svédország, 1950), repce (Svédország, 1953) betegségekkel szemben ellenálló, a gépi betakarítást jól tűrő Nc4x földimogyoró (USA, 1959), korán érő, termőképesebb *Cinka* paradicsom, melynek termése szobahőfokon egy hónapig tárolható (USA, 1960),

a standardnál 60—60 százalékkal termőképesebb *Radiola*-1175 és *Radiola*-1177 babok (Szovjetunió, 1964).

A mutánsok által elért megtakarításra az USA-ból rendelkezünk adatokkal (Lawrence et al. 1964). A *Sanilac* babfajta 1959-ben kezdte a termelésben Michiganban a kiindulásul szolgáló *Michelite* fajtát felváltani (20%-kal terem többet és ellenálló betegségekkel szemben). 1959-ben a vetésterületnek még csak 1/4-ét foglalta el, 1962-ben már 80%-át. 1959—60-ban a betegségek erősen károsították az egyéb fajtákat. A *Sanilac* fajta révén a termelők 1959-ben 4 000 000, 1960-ban 5 000 000 dollár értékű terméktöbblethez jutottak. A következő években vitalis mutánsokat előidéző dózisok, a krónikus besugárzás, a szelekciós módszerek fejlődése még több eredmény elérését teszi lehetővé.

Több vizsgálatot végeztek az állatok produktivitásának a növelésére. Fomina (1965) leghorn tyúkok 700 r-el történő kezelése után (a kakasokat nem sugározták be) az utódok egy részének tollazatában fekete, és feketefoltos részeket találtak. Tojástermelésünk 36%-kal elmaradt a kontroltól. Növekedett a tyúkok aránya (1,57 : 1). A szerző kételkedik abban, hogy a kezelt állománynak tenyésztési szempontból valami jelentősége lesz.

Cox (1964) 382 db *Duroc*, 418 db *Hampshire* malacot használt fel, hogy az apai szülő besugárzásának hatását tanulmányozza. A kanokat pároztatás előtt 5—6 hónappal 300 r-el sugározták be. Az almonkénti malacszám a besugárzott *Duroc* utódaiban 0,6-tal növekedett, a *Hampshiré*ben 0,5-el kevesebb volt.

Newcombe et al. (1964) patkányokon a tanulékonyság (labirintus kísérlet) változását vizsgálta. 12 nemzedéken keresztül a hímeket 400—1000 r-el kezelte — és minden csoportnál meghatározta a tévedések számát. 463 kezelt és 461 kontrol-állatot értékelve, az I. Q. (intelligenciahányados)-t a megfelelő csoportokban 100, illetve 94,65%-nak találta, azaz a besugárzás csökkentette az állomány tanulóképességét. 70%-kal nőtt a „buta" és 30%-kal csökkent az „elmés" állatok száma.

Applanalp et al. (1964) több tojást termelő tyúkfajtát kívántak előállítani besugárzással. A kakasok spermáját 1000—1500 r-el sugározták be. 7 nemzedék alatt így 8000 r sugárterhelést kapott a populáció. A tojástermeléssel és a szaporodással összefüggő értékmérő tulajdonságok csökkentek, egyedül a tojássúly maradt változatlan. A besugárzás után két nemzedék alatt a besugárzott állományban végzett szelekcióval a tojástermelőképességet sikerült majdnem a kontrol szintjére emelni. További szelekcióval sem sikerült azonban ezek utódaiból a kontrolt felülmúló tojástermelő törzseket kialakítani.

Spalding et al. (1964) 30 egérnemzedéken keresztül (a hímek minden évben 200 rad dózist kaptak) vizsgálta a besugárzás hatását az alomszám és az élettartam alakulására. Az alomszám, a fialások száma stb. a besugárzott csoportban csökkent, de egyes esetekben az almonkénti egérszám nagyobb, és az élettartam is hosszabb volt a besugárzott egyedek utódaiban, mint a

kezeletlenben. Ez arra utal, hogy lehetséges adaptálódás a sugárzások hatásához is, természetesen nemzedékek sora kell hozzá.

Az ismertetett eredmények azt mutatják, hogy sok kísérlet folyik magasabbrendű szervezetekben az életrevalóság növelésére. Ezek nem sok pozitív eredményt hoztak, nézetem szerint azért, mert túl nagy dózisokkal dolgoznak. Kisebb dózisoknál (l. az utolsónak ismertetett egérkísérletet) több pozitív irányú megváltozás várható.

Összefoglalás

1. Áttekintve a mutációs elmélet fejlődésének néhány eredményét láthattuk, hogy a magasabbrendű szervezetekben is a mutációs folyamatot és a sugárérzékenységet a *mutagén és a kromoszómák DNS-tartalma közötti kölcsönhatás* alapján magyarázzák.

2. Ennek alapján értelmezhető, de az esetek nagy részében ismeretlen előttünk az egyes mutagének *specifikus* hatásának az oka.

3. A mutáció manifesztálódása során különböző *genetikaszinteket* érint, amelyek során ezek és a környezet módosító hatása miatt a várt megváltozások nem következnek be.

4. Tekintve, hogy a DNS-szerkezet tervszerű megváltozására magasabbrendű szervezetekben jelenleg nincs lehetőségünk, sokoldalúan kell tanulmányoznunk a mutációk kialakulását *közvetve befolyásoló tényezőket.*

5. Több elméleti probléma tisztázatlansága ellenére a gyakorlat több mutáns antibiotikumtörzset, növényfajtát hasznosít. Folynak kísérletek mutagének segítségével az állatok produktivitásának növelésére is.

IRODALOM

Alihanján, Sz. I.: Inducirovannüj mutagenez v szelekcii mikroorganizmov. Izv. Ak. Nauk. Szer. Biol. **4,** 544—575 (1962).

Bálint A.: Az öröklés és származástan alapjai. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest (1964).

Bálint A.—Sutka, J.—Kovács Gné: Besugárzással és etilmetánszulfonáttal kezelt kukoricavonalak összehasonlító citológiai és élettani vizsgálata. Biológiai Közlemények **12,** 1/11—15 (1964).

Bálint A.—Sutka J.: Gamma-sugárzás hatása a kukorica egyes kvantitatív jellegeinek változékonyságára. Növénytermelés **14,** 1/67—72 (1965).

Barron, E. S. G.: Effects of X-rays on tissue metabolism. USAEC Report AECD-2316 (1946).

Dubinyin, N. P.: Problemi radiacionnoj genetiki. Atomizdat. Moszkva (1961).

D'Amato, F.—Hoffman-Ostenhof, O.: Metabolism and spontaneous mutations in plants Advances in Genetics **8,** 1—20 (1956).

Freese, E.: Molecular mechanism of mutations, In Vol. Molecular Genetics I. Acad. Press. New York 207—269 (1963).

Fahmy, O. G.—Fahmy, M. I.: Biological organisation in relation to differential gene response to mutagens. Induction of mutations and the mutation process Pub. House of the CSAC Prague c. kötetben 14—25. o. (1965).

Fomina, K. Sz.: A vlijanii rendgenooblücsenyija na kur i ih patomsztva. „Az izotópok felhasználása a mezőgazdasági kutatásban" c. konferencia tézisei. Leningrad—Moszkva—Tbiliszi. (Kézirat, oroszul, 34—37. o.) (1965.)

FRITZ-NILI, H.: Strahlenbiologie. Georg Thiema V. Stuttgart (1959).
GUSTAFSSON, A.: Chemical mutagenesis in higher plants. Chemische mutagenese. Akad. Verlag. Berlin c. kötetben 14—29. o. (1960).
GLUBRECHT, H.: Ultraviolettmikrospektrometrische Untersuchung partiell bestrahlter Pflanzenzellen. Biophysik **1,** 78—86 (1963).
HESLOT, H. et R. FERRARY: Action génétique comparée des radiations et de quelques mutagénes sur l'orge. Ann. Inst. Nat. Agron. Paris **44,** 2—20 (1958).
IGALI S.: Sugárzás és élet. Gondolat Kiadó. Budapest (1964).
JANUSKEVICS, Sz. I.: Vlijanyie uszlovia virascsivanyie jacsmenja i psenicö na usztoicsvoszty szemjan oblucsenyii (in Predposzevnoje Oblucsenyie szemjan sz. h. kultur. Izd. Akad. Nauk SzSzSzR. Moszkva. 62—65 (1963).
LAWRENCE, I. H., MANOWITZ, M. D. B., LOEB, B. S.: Radioisotopes and Radiation. McGraw-Hill Book Co. New York—San Francisco—Toronto—London. (1964).
MAC KEY, J.: Mutation breeding in polyploid cereals. Acta Agric. Scand. **4,** 549—557 (1954).
MARSHAK, A.: The effect of x-rays on chromosomes in mitosis. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S., **23**362—363 (1937).
NYBOM, N.: Some further experiments on chronic gamma irradiation of plants. Botan. Notiser **109,** 1—11 (1956).
NILAN, R. A.: The cytology and genetics of barley. 1961—62. Monographic Supplement No. 3. Washington State University **32**, 1—278 (1964).
SPARROW, A. H.—SPARROW, RHODA, C.—THOMPSON, K. H.—SCHAIRER, L. A.: The use of nuclear and chromosomal variables in determining and predicting radiosensitivities. Technical mtg. Use of Induced Mutations in Plant breeding. FAO-IAEA-EUCARPIA. Rome (1964).
SPARROW, A. H. and MIKSCHE, J. P.: Correlation of nuclear volume and DNA content with higher plant tolerance to chronic radiation. Science **134,** 282—283 (1961).
SHULL, W. I.: Mutations. The University of Michigan Press. Ann Arbor. (1962).
STONE, W. S., WYSS, O., HAAS, F.: The production of mutations in Staphylococcus aureus by irradiation of the substrate. Proc. Nat. Acad. Sci. V. S. **33,** 59—66 (1947).
PUCK, T. T.: Quantitative studies on mammlian cells in vitro. Rev. Mod. Phys. **31,** 433—448 (1959).
SZILÁGYI GY.: A fejlődés folyamán alkalmazott sugárzások hatása a búza egyes biológiai tulajdonságaira. Kandidátusi értekezés. Martonvásár (1964).
SZISZAKJAN, N. M.: Problemi koszmicseszkoj biologii I—II. Izd. AN SzSzSzR. Moszkva (1962).
VÁRTERÉSZ V.: Sugárbiológia. Medicina Könyvkiadó. Budapest (1963).
WETTSTEIN, D. VON, A. GUSTAFSSON und L. EHRENBERG: Mutationsforschung und Züchtung. Arbeitsgem. Forschg. Land. Nordrhein-Westfalen **73,** 1—60 (1957).
WEISS, I.: Radiochemistry of aquenous solutions. Nature **153,** 748 (1944).
WEISS, I.: Proceeding of the Symposium: The Effects of Radiation on the Mereditary Fittness of Mammalion Populations. Genetics **50,** 5, 2, 1027—1217 (1) (1964).
WEISS, I.: Symposium on the mutational process. Praha (Kivonatok) (2) (1965).

21,— Ft

TARTALOM

IDŐSZERŰ GENETIKAI KÉRDÉSEK, I. RÉSZ

Csányi Vilmos: A genetikai információ alapjai 289

Szende Kálmán: A molekuláris genetika módszertani kérdéseiről 311

Sik Tibor: A bakteriofágok genetikai finomszerkezete 335

Alföldi Lajos: Baktériumok regulációs mechanizmusai 359

Bálint Andor: A magasabbrendű szervezetek mutációs jelenségei 377

Megjelent 1966. március 17

Index: 26.496