

# BIOKÉMIA

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

Szerkesztőbizottság:

ALKONYI ISTVÁN, BÁNFALVI GÁSPÁR, ELŐDI PÁL, FALUS ANDRÁS, FÉSÜS LÁSZLÓ,  
GERGELY PÁL, HUDECZ FERENC, NYESTE LÁSZLÓ, SARKADI BALÁZS

Felelős szerkesztő:

SZÉKÁCS ANDRÁS

XXVI. ÉVF. 2. SZÁM

2002. JÚNIUS

A tartalomból:

- ◇ Elektroforetikus mikrochipek alkalmazása gyors DNS-analízisre – *Rónai Zsolt, Sasvári-Székely Mária, Chován Tibor és Guttman András*
- ◇ Nanobaktériumok – *Bókkon István*
- ◇ A Peptidbiokémiai Szakosztály hírei – *átvéve a European Peptide Society Newsletter 26. számából*
- ◇ Dicsőséglista – *Csermely Péter*

Címlapkép: *Drégely László, Barna-fekete portré (1959), olaj, papíron  
(ld. a „Művészsarok” rovatot a a 40. oldalon)*



Contents:

- ◇ Application of electrophoretic microchips for rapid DNA analysis – *Zsolt Rónai, Mária Sasvári-Székely, Tibor Chován and András Guttman*
- ◇ Nanobacteria – *István Bókkon*
- ◇ News of the Peptide Biochemistry Section of the Hungarian Biochemical Society – *taken from Issue 26 of the European Peptide Society Newsletter*
- ◇ List of prominence – *Péter Csermely*



Kiadja a Magyar Biokémiai Egyesület, 1518 Budapest, Pf. 7

e-mail: [biokemia@nki.hu](mailto:biokemia@nki.hu) [www.webio.hu/biokemia](http://www.webio.hu/biokemia)

Felelős kiadó: Dr. Friedrich Péter

Az engedély száma: III/SZI/397/1977 HU ISSN 0133-8455

Készíti és terjeszti a **dART studio** (1137 Budapest, Újpesti rakpart 6. Tel.: 349-3426)

Ára • a Magyar Biokémiai Egyesület tagjai részére: tagdíj ellenében,  
• nem egyesületi tagoknak: 680 Ft + postaköltség

**Minden megvalósítható...  
...a megfelelő eszközzel**

 **PIERCE**

**PIERCE  
ENDOGEN**  
a brand of 

 **HyClone**  
an invitro

**Kérje katalógusainkat!**

 **NEW ENGLAND  
BioLabs**

 **Cell Signaling  
TECHNOLOGY**

[ a new company from New England Biolabs ]

 **FINNZYMES**

**M $\beta$ P**  
Molecular BioProducts  
*Bringing ART To Science*

 **DYNAL**

 **EPICENTRE**  
...when you need to be sure of the quality

KÉPVISELET:

**kvalitex**

Tudományos, Technológiai, Kereskedelmi Kft.

Kvalitex Kft. 1136 Budapest, Pannónia u. 7. Tel.: 340-4700; Fax: 339-9274; email: [kvalitex@axelero.hu](mailto:kvalitex@axelero.hu)

# Elektroforetikus mikrochipek alkalmazása gyors DNS-analízisre

## Application of electrophoretic microchips for rapid DNA analysis

Rónai Zsolt<sup>1</sup>, Sasvári-Székely Mária<sup>1</sup>,  
Chován Tibor<sup>2</sup>, Guttman András<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Semmelweis Egyetem, Orvosi Vegytani, Molekuláris Biológiai és Pathobiokémiai Intézet, 1088 Budapest, Puskin u. 9., E-mail: ronai@puskin.sote.hu

<sup>2</sup> Veszprémi Egyetem, Vegyészmérnöki Intézet, Folyamatmérnöki Tanszék, 8200 Veszprém, Egyetem u. 10., E-mail: chovan@fmt.vein.hu

<sup>3</sup> Torrey Mesa Research Institute, 3115 Merryfield Row, San Diego, CA 92121, USA, E-mail: andras.guttman@syngenta.com

### Összefoglalás

A molekuláris biológia rohamos fejlődése új igényeket és előrelépéseket hozott az elektroforetikus technikák területén is. A polimeráz láncreakció (PCR) alapú technikák utolsó lépése rendszerint a DNS-fragmentumok elektroforetikus analízise, amely hagyományos technikák alkalmazása esetén a folyamat sebességmeghatározó szűk keresztmetszete. Az egyik legújabb módszer gyors analízis elvégzésére a mikroelektroforézis, az ún. elektroforetikus chip technika. A miniatürizálás számos előrelépést jelent: nemcsak az elválasztás gyorsasága, hanem a felbontóképessége is nagyságrendekkel emelkedett, emellett a hagyományosan egymást követő reakciók (pl.: PCR, restrikciós fragmenshossz polimorfizmus (RFLP), DNS-fragmentum analízis) egyetlen monolitikus mikrochipben is elvégezhető. Ezen integráció jelentős idő-, költség- és munkamegtakarítást jelent. Munkánk során kettős szálú DNS-molekulák elválasztásának paramétereit tanulmányoztuk polivinil-pirrolidon polimeroldat felhasználásával elektroforetikus mikrochipen. A detektálás lézerindukált fluoreszcencia elvén konfokális mikroszkóp segítségével történt. A DNS-molekulákat fluoreszcens interkalátor festékkel jelöltük az elválasztási folyamat során. Kísérleteinkben az elektroforetikus mikrochipen való elválasztás polimerkoncentráció-, hőmérséklet-, elektromos térerő- és interkalátor koncentrációfüggését vizsgáltuk.

Rónai, Zs.<sup>1</sup>, Sasvári-Székely, M.<sup>1</sup>,  
Chován, T.<sup>2</sup> and Guttman, A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Semmelweis University, Department of Medical Chemistry, Molecular Biology and Pathobiochemistry, H-1088 Budapest, Puskin u. 9, Hungary, E-mail: ronai@puskin.sote.hu

<sup>2</sup> Veszprém University, Institute of Chemical Engineering, Department of Process Engineering, H-8200 Veszprém, Egyetem u. 10, E-mail: chovan@fmt.vein.hu

<sup>3</sup> Torrey Mesa Research Institute, 3115 Merryfield Row, San Diego, CA 92121, USA, E-mail: andras.guttman@syngenta.com

### Summary

Recent rapid developments in molecular biology resulted in new expectations and improvements in the field of electrophoretic separation techniques. Electrophoresis-based analysis is usually the final step in PCR-based genotyping methods, and can be the rate-limiting factor when conventional techniques are used. Modern microfabrication technology has been recently introduced for the development of miniaturized separation devices. Electric field mediated separation of DNA molecules on such microdevices improved the throughput and resolution by orders of magnitude. In addition, this new technique provided the possibility of system integration, i.e., not only electrophoresis, but restriction digestion and/or polymerase chain reaction can also be carried out in microchips. In this paper we report our investigation on the electrophoretic migration characteristics of double stranded DNA (dsDNA) molecules in narrow bore microfabricated channels. Separations were detected by laser induced fluorescence setup using a confocal microscope. DNA molecules were labeled by a fluorescent intercalator dye and the separations were carried out in polyvinylpyrrolidone medium. Effects of sieving matrix concentration, temperature, electric field and intercalator concentration on the electrophoresis mobility of the dsDNA molecules were thoroughly investigated.

## Bevezetés

Töltéssel rendelkező molekulák analizésére 1930-ban Tiselius vezette be az elektroforézis módszerét. Kísérletei során a vérplazma fehérjéinek elválasztását végezte el, munkájáért 1948-ban Nobel-díjjal jutalmazták. Az elektroforetikus módszerek gyors fejlődése során a technika számos különböző változatát dolgozták ki, napjaink fő irányvonala a nagy hatékonyságú, automatizált rendszerek fejlesztése [1].

A molekuláris genetika rohamosan növekvő igényeinek és a technikában megfigyelhető általános fejlődési tendenciáknak megfelelően a miniatürizálás az elválasztástechnikák körében is egyre inkább tért hódít. Így fejlődött ki a kapilláris elektroforézisből az elektroforetikus mikrochip [2,3], a horizontális gélelektroforézis utódja pedig az automatizált ultravékony elektroforézis lett [4,5]. A miniatürizálás számos előnnyel jár különösen azon alkalmazások esetében, ahol sok minta gyors elemzése szükséges, ami a genomika–proteomika korszakában már-már alapvető fontosságúnak látszik. A hagyományos módszerekhez képest lényegesen lerövidül az elektroforetikus analizések időtartama (perc–másodperc nagyságrend), többcsatornás rend-

szerek alkalmazásával (*multiplexing*) párhuzamosan több minta vizsgálata válik lehetővé, s ezen új módszerek automatizálhatók, mindez jelentős munka-, idő-, anyag- és költségmegtakarítást jelent [6].

Az elektroforetikus analizés ígéretes eszközei az elektroforetikus mikrochipek. Mivel lényegében miniatürizált kapilláris elektroforézis berendezéseknek tekinthetők, a már kidolgozott és még részben beállítás alatt álló alkalmazások kiemelkedően széles körűek. A molekulák elválasztása kis méretű üveglapba maratott, 10–40  $\mu\text{m}$  mély és 60–200  $\mu\text{m}$  széles csatornában történik [7]. A csatornák a mikrochip felszínén lévő nyílásokban végződnek, amelyek az oldatok (minta, puffer, szeparáló mátrix) bejuttatására szolgálnak. Az ide csatlakozó elektródok segítségével az egyes csatornában különböző nagyságú és polaritású elektromos mező alakítható ki, amely alkalmas a mikrochipben az anyagok mozgatására és a minták elektroforetikus elválasztására.

Üvegen kívül más anyagot (pl. műanyagokat) is alkalmaznak mikrochipek készítésére. Ezen miniatürizált körülmények között ugyanis a felszín anyagi minősége már fontos szerepet játszik. A



**Rónai Zsolt** (1975) orvos, PhD. Szakterülete a humán genom és genetikai polimorfizmusok kutatása. Egyetemi tanulmánya alatt Beznák Aladár-díjat, PhD-hallgatóként a Magyar Tudományos Akadémia Ifjúsági díját kapta. Gyakorlatot vezet a Semmelweis Egyetemen magyar és angol nyelven. Külföldi tanulmányút során San Diegóban kutatott 1 évig.

**Sasvári-Székely Mária** biológus (1972), a Semmelweis Egyetem Orvosi Vegytani, Molekuláris Biológiai és Pathobiokémiai Intézetének habilitált docense, fontosabb ki-tüntetései: Huzella Tivadar emlékérem (2001) „Kiváló TDK oktató” (2002). Laboratóriuma néhány éve foglalkozik genetikai-pszichobiológiai kutatásokkal, mely munkába számos fiatal egyetemi hallgatót és doktoranduszt vont be, velük együtt kezdik meg annak a – jelentős mértékben amerikai együttműködésben folyó – Széchenyi-tervnek a megvalósítását, melynek Dr. Sasvári Mária a koordinátora.



**Chován Tibor** vegyészmérnök, egyetemi doktor (1994), a Veszprémi Egyetem Folyamatmérnöki Tanszékének adjunktusa. Oktatási és kutatási területe a korszerű folyamatmérnöki eszközök és módszerek alkalmazása, ezen belül szakaszos technológiai rendszerek modellbázisú fejlesztése és irányítása. Az utóbbi években kezdett foglalkozni a mikrofluidikai eszközök alkalmazási lehetőségeinek és szimulációs módszereinek vizsgálatával. Ösztöndíjasként az Akroni (UA), a Leuveni (KUL) és a Barcelonai Műszaki Egyetemen (UPC) folytatott hosszabb tanulmányokat.

**Guttman András** (1954) okleveles vegyészmérnök, a kémiai tudomány doktora. Jelenleg a Torrey Mesa Research Institute kutatója, tudományos csoportvezető. Kutatási területe a kapilláris gélelektroforézis és mikrofluidikai módszerek alkalmazása az orvosi biológiai kutatásban, amely témakörből eddig több mint 100 publikációja jelent meg. Ösztöndíjasként Bostonban és Linzben végzett kutatásokat. Tagja az Electrophoresis, a Journal of Chromatography és a Journal of Liquid Chromatography tudományos folyóiratok szerkesztőbizottságának. 2001-ben megkapta a Magyar Kémikusok Egyesültének Heuréka-díját.



rendkívül nagy felület-térfogat arány előnyös az elektroforetikus folyamatban felszabaduló hő gyors elvezetése szempontjából, ugyanakkor hátránya különösen fehérjék elektroforézise, illetve kémiai reakciók (PCR, restrikciós emésztés) során, hogy a negatív töltésű üvegfelszín jelentős gátló tényezőként szerepelhet (nem specifikus kötődés). Műanyagok alkalmazása esetén ezzel a kedvezőtlen hatással kevésbé kell számolnunk, emellett olcsók, nem törékenyek és könnyebben megmunkálhatók [8–11].

A legegyszerűbb mikrochipek két egymást keresztező csatornát tartalmaznak. A rövidebb csatorna a minta injektálására, a hosszabb az elektroforetikus elválasztásra szolgál. Két mintatartály alkalmazásával egyetlen csatornában is igen pontos molekulaméret-meghatározás válik lehetővé, a minta és a molekulatömeg-marker egyidejű injektálásával és elválasztásával [12]. Ugyanakkor ma már lényegesen összetettebb elrendezésű elektroforetikus mikrochipek is léteznek: 10 cm átmérőjű mikrochip sugárirányú csatornáiban 96 minta egyszerre vizsgálható. A mikrochipre ebben a rendszerben a minták felvitele is automatizáltan történik, egy minta analízisének ideje átlagosan 5 másodperc [13]. A detektálás a mikrochipen főképpen lézerindukált fluoreszcencia segítségével történik. Ezen technika igen nagy érzékenységet biztosít: megfelelő körülmények között a Cy-5 fluoreszcens festék még 9 pM-os hígításban is kimutatható [14].

A kapilláris elektroforézisnél is használt alkalmazások mellett (DNS-fragmentumok analízise [15], fehérjék SDS gélelektroforézise [16]) olyan rendszereket is kidolgoztak, melyek a korábbi technikákkal elképzelhetetlenek voltak. Egyetlen folyamat részeként a mikrochip csatornáiban a PCR [17] és a restrikciós emésztés [18] is elvégezhető, így a módszer igen hatékonyan használható mind egyszeres nukleotid polimorfizmusok (SNP) [19], mind pedig hosszúságpolimorfizmusok [20] gyors vizsgálatára. Megfelelő körülmények között olyan jó elválasztási felbontás érhető el, hogy a mikrochip DNS-szekvenálásra is alkalmas [21,22]. Így válik az elektroforetikus mikrochip a genetikai polimorfizmusok vizsgálata során kiemelkedő jelentőségűvé.

## Módszerek

Az elektroforetikus mikrochip detektorrendszer felépítésének sémáját az 1. ábra mutatja. A detektá-

lás „időben” történik („on-line”, *real-time* detektálás): a mikrochip egy fordított konfokális mikroszkóp tárgyasztalán fekszik, az 532 nm hullámhosszúságú lézersugarat (C) tükrök ( $E_1$ ,  $E_2$ ) vezetik ide, amit az objektív (D) a mikrochip (B) hosszú csatornájának egy adott pontjára fókuszál. A kapott fluoreszcens fény ugyanezen a mikroszkópobjektívén keresztül vezetődik vissza (konfokális konfiguráció), a kettőtörő tükrök ( $E_1$ ) azonban ezen a hullámhosszon a fényt áteresztik, a jel így lencséken ( $F_1$ ,  $F_2$ ) és szűrőkön ( $G_1$ ,  $G_2$ ) keresztül a detektorba (H), majd a számítógépbe jut.

**1. ábra** Az elektroforetikus mikrochip berendezés felépítésének vázlatja (lásd a színes ábrát a 33. oldalon).

A csatornák a mikrochip felszínén egy-egy mélyedésben végződnek (2. ábra), ezeken keresztül juttatható be az elválasztáshoz alkalmazott polimeroldat és a minta, továbbá ide kapcsolódnak az elektrodok: a nagyfeszültségű áramforrást (1. ábra, A) szintén a számítógép vezérli előre megírt program szerint. A 4. hely szolgál a minta injektálására, az 1., 2. és 3. helyek futtató puffert tartalmaznak.



**2. ábra** Az elektroforetikus mikrochip. 1, 3: puffer, 2: gyűjtő hely, 4: minta

A kísérlet kezdete előtt a mikrochipet megtöltjük a polimeroldattal: a kitisztított mikrochip 2. helyére 1  $\mu$ l puffert adagolunk, ez a kapillaritás miatt a csatornákat szinte azonnal megtölti. Lényeges ellenőrizni, hogy a csatornák valóban teljesen megteltek-e, nem képződött-e valahol buborék. Ezután a 4. helyre 1  $\mu$ l mintát, az 1. és 3. pozícióba pedig 1–1  $\mu$ l futtató puffert mérünk (a puffer rendszerint azonos az elválasztáshoz alkalmazott polimerrel). A mikrochipet ezután a mikroszkóp tárgyasztalára helyezük, rögzítjük az elektrodokat, a lézersugarat (~50 nm átmérőjű) pedig a kereszteződéstől kívánt távolságban az elválasztó csatorna (1–3) közepére fókuszáljuk (a mikroszkóp segítségével).

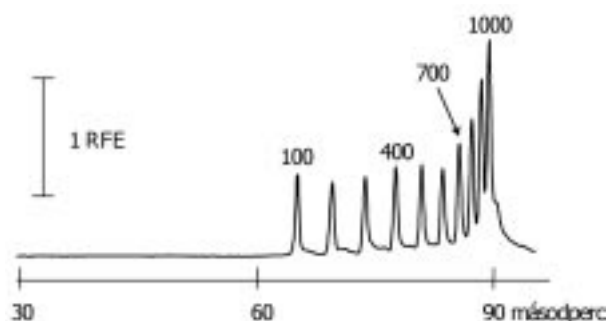
Az elektroforézis első lépése az injektálás, ennek során a DNS-minta a 4. tartályból a 2. tartályba

áramolva megtölti a rövid csatornát és a két csatorna kereszteződését. Az ezt követő elválasztásban a mintának csak az a kis része vesz ténylegesen részt, amely az injektálás befejeztével épp a kereszteződésben van – ennek térfogata kb. 0,1 nl. Az elválasztás során a feszültségeket úgy állítjuk be, hogy a kapillárisok kereszteződésében lévő molekulák a 3. pont felé mozdulnak el, a minta többi része viszont lassan visszaáramlik a minta- (2), illetve a gyűjtőtartályokba (4). Ez a jó felbontású elektroforézis alapfeltétele, mivel ha a DNS az elválasztás alatt „beszivárog” az 1–3. csatornába, akkor éles csúcsok helyett elmosódott, emelkedő alapvonalú elektroferogramot kapunk. Az injektálás és az elválasztás során alkalmazott feszültségértékek egyik lehetséges példáját és az egyes csatornáknál a DNS mozgásának irányát az *I. táblázat* foglalja össze.

**I. táblázat** Az injektálás és az elválasztás során alkalmazott feszültségértékek és a DNS vándorlása az egyes csatornáknál (lásd a 33. oldalon).

## Eredmények

Az elektroforetikus mikrochip napjainkban a legmodernebb elválasztástechnikai eszközök közé tartozik. Munkánk során célunk az volt, hogy a leg egyszerűbb modellchip, a 100  $\mu\text{m}$  eltolású dupla-T injektoros, egycsatornás chip alkalmazásával kidolgozzuk a nagy érzékenységű és gyors dsDNS (kettős szálú DNS) fragmentumanalízis optimális körülményeit. Kísérleteinket 100 bázispáros DNS-létra (100, 200, ..., 1000 bp fragmentumok, *3. ábra*) alkalmazásával végeztük, és elemeztük az elektroforézis gél- és festékkoncentráció-, hőmérséklet-, illetve elektromostérierő-függését [23].

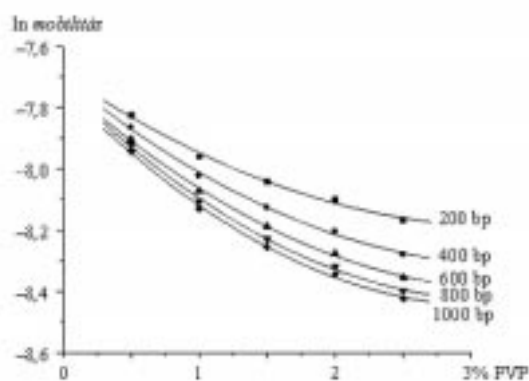


**3. ábra** 100 bázispáros DNS-létra elválasztása az elektroforetikus mikrochipen (RFE: relatív fluoreszcens egység). A csúcsok fölötti számok a fragmentum méretét mutatják.

## Gélkoncentráció-függés

Kísérleteink során molekulaszűrő mátrixként polivinil-pirrolidon (PVP, molekulatömeg: 1 300 000) oldatot alkalmaztunk, mivel ez a polimer mellett, hogy jól alkalmazhatónak bizonyult a DNS-molekulák elválasztására, egyben a chip üvegcsatornáinak falát bevonva az elektroozomotikus áramlás megfelelő csökkentését és így az elektroforézis reprodukálhatóságát is biztosította. A különböző koncentrációjú polimeroldatok felbontóképességének vizsgálata céljából 0,5–2,5%-os polivinil-pirrolidon oldatokat alkalmazva végeztük el a 100 bázispáros DNS-létra elektroforézisét. Kísérleteink során az effektív elválasztási távolság 30 mm, az elektromos térierő 200 V/cm volt. A mintaként használt 25 ng/ $\mu\text{l}$  koncentrációjú markeroldatot 0,2  $\mu\text{M}$  Sytox Orange reagenssel festettük.

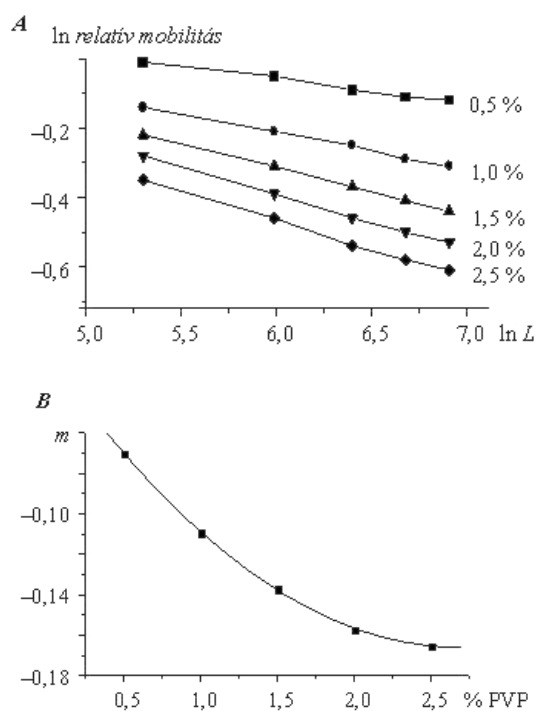
A *4. ábrán* a különböző nagyságú fragmentumok elektroforetikus mobilitásának ( $\mu$ ) természetes alapú logaritmusát ábrázoltuk a polimer oldatkoncentráció függvényében (Ferguson-görbék). Minden pont 5 párhuzamos mérés eredményének átlagát mutatja – a szórás 1%-on belül volt. A Ferguson-függvények lefutásában megfigyelhető görbület oka feltehetően az, hogy a hígítással párhuzamosan az oldatban lévő polimer bizonyos konformációváltozáson megy keresztül. Érdeemes hangsúlyozni, hogy kísérleteink során az elektromos térierő (200 V/cm) lényegesen nagyobb akár hagyományos alámerülő gélelektroforézis során (1–4 V/cm), akár az ultravékony gélelektroforézis során (40–75 V/cm) alkalmazottnál.



**4. ábra** Polimer koncentrációfüggés (Ferguson-görbe)

A különböző koncentrációjú polimeroldatok használata során mért relatív elektroforetikus mobilitás

értékek természetes alapú logaritmusát  $-\ln(\mu/\mu_0)$  – a dsDNS fragmentum mérete természetes alapú logaritmusának  $-\ln L$  – függvényében ábrázolva kapjuk az ún. reptációs függvényeket (5A ábra). A relatív mobilitás kiszámolásához használt  $\mu_0$  érték a „végtelen híg” oldatban mért mobilitás, amelyet a extrapolált Ferguson-görbék (4. ábra) y-tengely-metszete ad meg. A reptációs függvények meredekségét a polimerkoncentráció függvényében ábrázolva (5B ábra) láthatjuk, hogy ez az érték csökken a magasabb koncentrációjú polimermátrixban történő elválasztás esetén. A kísérleteink során kapott értékek a  $(-0,07)$ – $(-0,165)$  tartományban helyezkednek el, melynek alapján arra következtethetünk, hogy 0,5–2,5%-os polivinil-pirrolidon mátrix alkalmazása esetén a 100–1000 bp nagyságú dsDNS-molekulák a gélben az Ogston-modell szerint vándorolnak, s a reptációs régiót  $(-1)$  hasonló kísérleti körülmények között csak 25%-os polivinil-pirrolidon használata esetén érhetnék el.

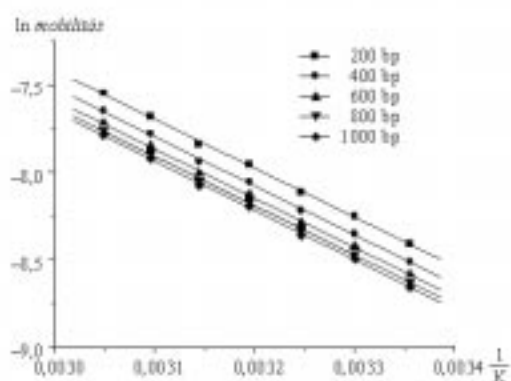


5. ábra A: Reptációs függvények B: A reptációs függvények meredeksége a géllkoncentráció függvényében

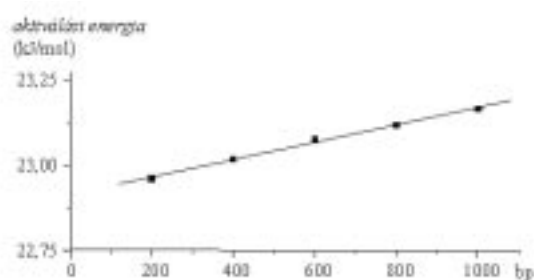
### Hőmérsékletfüggés

Hasonló kísérleti körülmények között ( $l = 30$  mm,  $E = 200$  V/cm, 2% PVP (molekulatömeg: 1 300 000)) vizsgáltuk az elektroforézis hőmérsékletfüggését a

20–50 °C hőmérséklet-tartományban. A 6. ábra az Arrhenius-görbéket mutatja, melyeket úgy kapunk, hogy a különböző hőmérsékleten mért elektroforetikus mobilitás-értékeket az abszolút hőmérséklet reciprokának függvényében ábrázoljuk. Az előző kísérletekhez hasonlóan az egyes adatpontok ebben az esetben is 5 párhuzamos mérés eredményének átlagát mutatják: a szórás ez esetben nem haladta meg a 0,2%-ot. A 7. ábra a DNS-fragmentummérethez tartozó aktiválásienergia-értékeket mutatja, melyeket úgy számoltunk ki, hogy az Arrhenius-egyenesek meredekségének reciprokát az univerzális gázállandóval megszoroztuk. Az Arrhenius-egyenesek jól mutatják, hogy a DNS-molekulák mobilitása a hőmérséklet növelésével emelkedik, s hasonlóan a nagyobb molekulamérethez nagyobb aktiválásienergia-értékek is tartoznak.



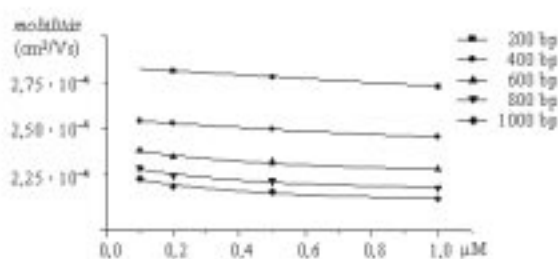
6. ábra Arrhenius-egyenesek



7. ábra A polimeroldat mátrix aktiválási energiája

### Festékkoncentráció- és elektromostérerő-függés

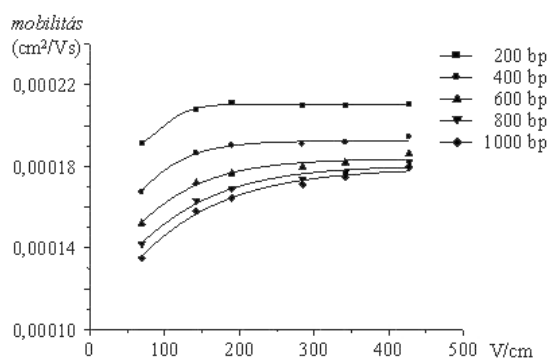
A 8. ábrán az elektroforetikus mobilitás-értékeket a festékkoncentráció függvényében (0,1–1  $\mu$ M) ábrázoltuk. Az ábráról leolvasható enyhe mobilitás-



8. ábra Festékkoncentráció-függés

csökkenés feltehetően a festékmolekula pozitív töltésének tulajdonítható, mivel így belőle egyre többet alkalmazva a DNS-festék komplex egységnyi tömegrre vonatkoztatott negatív töltése csökken.

Az elektroforetikus mobilitás elméletileg független az alkalmazott térerőtől, mégis más munkacsoportok [24,25] eredményeihez hasonlóan kísérleteinkben a  $\mu$  érték emelkedését figyelhettük meg a térerő növekedésével párhuzamosan – ezt ábrázolja a 9. ábra. Az ábráról leolvasható, hogy ezen kísérleti körülmények között 200 V/cm fölötti elektromos mező alkalmazása nem célszerű, mivel ez annak ellenére, hogy az elektroforézis sebességét tovább növeli, a nagyobb méretű dsDNS-fragmentumok elválasztását kedvezőtlenül befolyásolja.



9. ábra Elektromostérerő-függés

## Konklúzió

Napjainkban az újabb és újabb molekuláris biológiai módszerek kidolgozása egyre szorosabb kapcsolatba kerül a műszaki tudományokkal, az egyre hatékonyabb, egyre jobban automatizált technikák megvalósítása ezen szakterületek közös feladata. A fejlődés ütemét jól mutatja, hogy csupán 2 évvel ezelőtt a Humán Genom Program befejezését még

2003-ra jósolták [26]. A humán DNS-szekvencia közel teljes ismerete újabb kutatási területre, a funkcionális genomikára helyezi át a hangsúlyt. Ezen belül a polimorfizmus kutatások nagyban hozzájárulhatnak az egyes gének funkcióinak megismeréséhez. Az egészséges populációban előforduló genetikai polimorfizmusok hatásainak kutatása napjaink izgalmas feladata. A poligénes rendszerekben azonban az egyes génhatások nagyon kicsik, ezért vizsgálatukhoz nagyszámú minta elemzése szükséges, ehhez pedig egyre inkább elengedhetetlenek a nagy hatékonyságú, automatizált módszerek. Ezen technikák kidolgozása során a legfőbb fejlesztési irányvonal a miniatürizálás, mivel ez egyre kisebb térfogatú, ugyanakkor nagyobb számú minta kis helyen történő, gyors feldolgozását teszi lehetővé. Az első állomás az ultravékony elektroforézis, melynek egyik változatát munkacsoportunk fejlesztette ki [27]. A rendszer 24–32 – illetve a jelenleg fejlesztés alatt álló változatban 96 – minta párhuzamos analizisére alkalmas, a dsDNS-fragmentumok megfelelő elválasztása 8–10 perc alatt megvalósítható: a technika tehát nagyszámú PCR-minta kiértékelésére kitűnően alkalmazható [28]. A módszer közvetve a megelőző lépések időigényét is csökkenti: a restriktions emésztés a minták injektálására szolgáló membránon is elvégezhető, a nagy érzékenység miatt pedig a PCR is lerövidíthető: a ciklusok száma csökkenthető, mivel így is elegendő mennyiségű termék keletkezik. Az ultravékony elektroforézis a DRD4 hosszúságpolimorfizmusának vizsgálata során különösen nagy segítséget nyújtott, mivel amellyel, hogy a minták gyors elemzését lehetővé tette, nagy érzékenysége miatt olyan PCR-termékek jelenlétét is kimutatta, amik hagyományos módszerekkel nem lettek volna detektálhatók [29].

A DNS-chipnek nevezett – egymástól számos tényezőben különböző – kétféle módszer azért kapta ezt a nevet, mert előállításukban a számítógépchipek gyártása során alkalmazott technikákat (pl. fotolitográfia) hasznosítják [30,31]. A hibridizációs chipek működésének alapelve azonos a *Southern blot*, illetve a *reverse dot blot* módszerekével, a legfőbb különbség a méretdimenziókban, s így a hatékonyságban van. A módszer lényege tehát szekvenciaanalízis: a vizsgált DNS a chip felszínén rögzített – ismert bázissorrendű – próbákhoz kötődik, ennek alapján szekvenciájára következtetünk. A technika minőségi és mennyiségi analízisre egy-

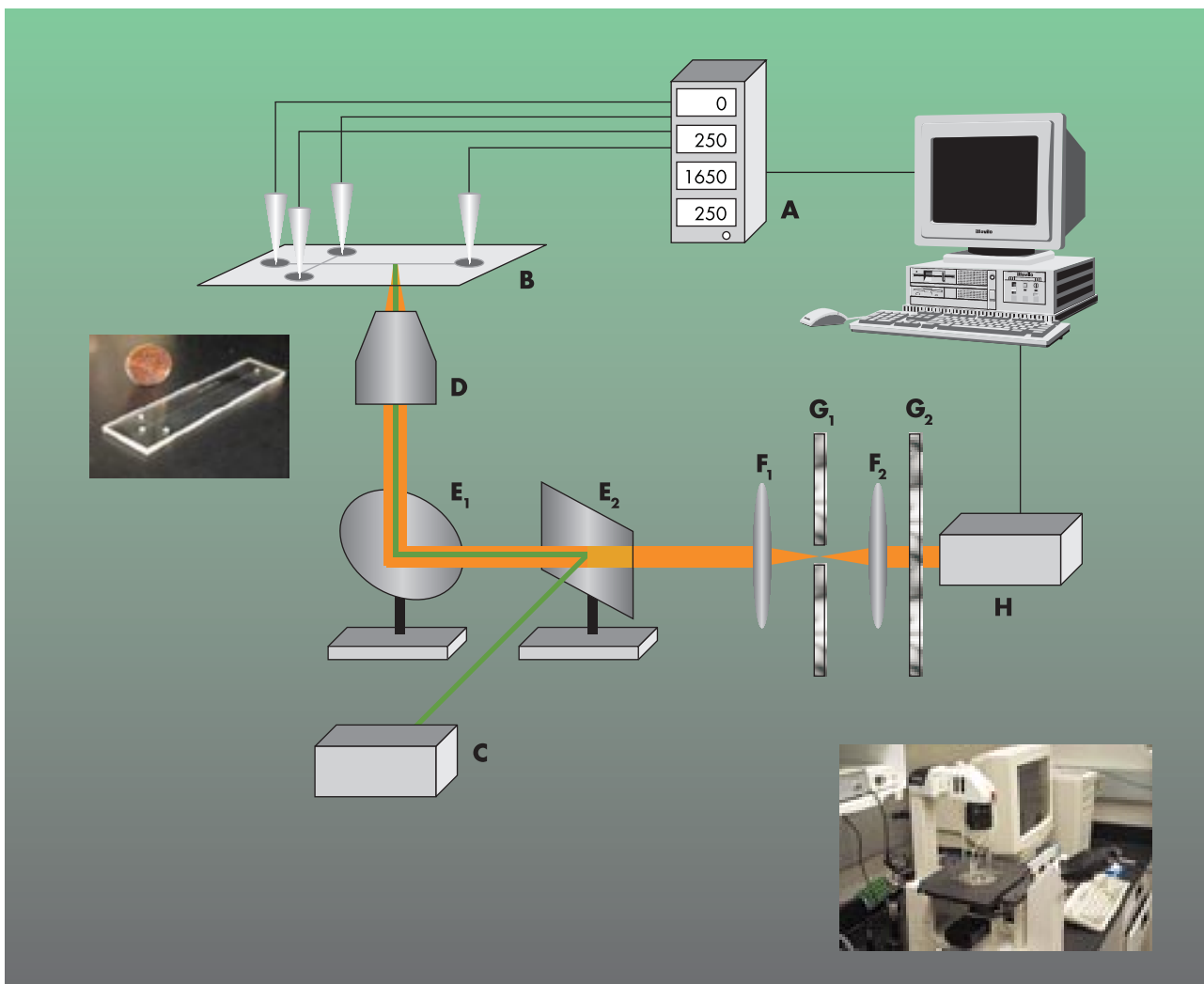


aránt alkalmas, fő felhasználási területe a géneexpresszió elemzése [32] és SNP-k, illetve rövid 1–5 bázispárt érintő mutációk (inzerciók, deléciók) ezreinek párhuzamos vizsgálata [33]. Az elektroforetikus mikrochipek töltéssel rendelkező molekulák (DNS, fehérjék) gyors és hatékony elválasztására alkalmas eszközök. Az analízis kisméretű üveg- vagy műanyaglap csatornáiban történik: a néhány cm méretű kapillárisokban nanoliternyi mennyiségű minták elemzése csupán másodperceket, esetleg perceket vesz igénybe [34].

Munkánk során a legegyszerűbb, keresztcsatornás chip alkalmazásával elemeztük DNS-molekulák elválasztásának kinetikai sajátosságait: eredményeink későbbi alkalmazások kidolgozásának alapjául szolgálnak [35]. A DRD4 III. exon VNTR polimorfizmusát ezzel a módszerrel is vizsgáltuk: a mintákat allél-létrával (a különböző méretű allélokról keletkező eltérő nagyságú PCR-termékek keveréke) injektáltuk együtt. A módszer így teljesen megbízhatónak bizonyult és a DNS-fragmentumok elválasztása csupán 100 másodpercet vett igénybe [36]. Az elektroforetikus mikrochipek a genetikai polimorfizmusok vizsgálatának egyre hasznosabb eszközei lesznek, mivel nagy teljesítményük mellett az egyes kísérleti lépések integrálásnak a lehetőségét is magukban rejtik: a mikrochipen nemcsak a dsDNS-molekulák elektroforetikus analízise, de a PCR [17] vagy az RFLP [18] is egyszerűen megvalósítható.

## Irodalomjegyzék

- [1] Issaq, H. J. (2000) A decade of capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, **21**: 1921-1939.
- [2] Woolley, A. T., Mathies, R. A. (1994) Ultra-high-speed DNA fragment separations using microfabricated capillary array electrophoresis chips. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **91**: 11348-11352.
- [3] Jacobson, S. C., Ramsey, J. M. (1995) Microchip electrophoresis with sample stacking. *Electrophoresis*, **16**: 481-486.
- [4] Grossman, P. D., Menchen, S., Hershey, D. (1992) Quantitative analysis of DNA-sequencing electrophoresis. *Genet. Anal. Tech. Appl.*, **9**: 9-16.
- [5] Maurer, H. R., Dati, F. A. (1972) Polyacrylamide gel electrophoresis on micro slabs. *Anal. Biochem.*, **46**: 19-32.
- [6] Bruin, G. J. (2000) Recent developments in electrokinetically driven analysis on microfabricated devices. *Electrophoresis*, **21**: 3931-3951.
- [7] Liu, Y. M., Sweedler, J. V. (1996) Channel electrophoresis for kinetic assays. *Anal. Chem.*, **68**: 2471-2476.
- [8] Martynova, L., Locascio, L. E., Gaitan, M., Kramer, G. W., Christensen, R. G., MacCrehan, W. A. (1997) Fabrication of plastic microfluid channels by imprinting methods. *Anal. Chem.*, **69**: 4783-4789.
- [9] IXu, J., Locascio, L., Gaitan, M., Lee, C. S. (2000) Room-temperature imprinting method for plastic microchannel fabrication. *Anal. Chem.*, **72**: 1930-1933.
- [10] McDonald, J. C., Duffý, D. C., Anderson, J. R., Chiu, D. T., Wu, H., Schueller, O. J., Whitesides, G. M. (2000) Fabrication of microfluidic systems in poly(dimethylsiloxane). *Electrophoresis*, **21**: 27-40.
- [11] Ocvirk, G., Munroe, M., Tang, T., Oleschuk, R., Westra, K., Harrison, D. J. (2000) Electrokinetic control of fluid flow in native poly(dimethylsiloxane) capillary electrophoresis devices. *Electrophoresis*, **21**: 107-115.
- [12] Waters, L. C., Jacobson, S. C., Kroutchinina, N., Khandurina, J., Foote, R. S., Ramsey, J. M. (1998) Multiple sample PCR amplification and electrophoretic analysis on a microchip. *Anal. Chem.*, **15**: 5172-5176.
- [13] Simpson, P. C., Roach, D., Woolley, A. T., Thorsen, T., Johnston, R., Sensabaugh, G. F., Mathies, R. A. (1998) High-throughput genetic analysis using microfabricated 96-sample capillary array electrophoresis microplates. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **95**: 2256-2261.
- [14] Jiang, G., Attiya, S., Ocvirk, G., Lee, W. E., Harrison, D. J. (2000) Red diode laser induced fluorescence detection with a confocal microscope on a microchip for capillary electrophoresis. *Biosens. Bioelectron.*, **14**: 861-869.
- [15] Eggers, M., Ehrlich, D. (1995) A review of microfabricated devices for gene-based diagnostics. *Hematol. Pathol.*, **9**: 1-15.
- [16] Yao, S., Anex, D. S., Caldwell, W. B., Arnold, D. W., Smith, K. B., Schultz, P. G. (1999) SDS capillary gel electrophoresis of proteins in microfabricated channels. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **96**: 5372-5377.
- [17] Khandurina, J., McKnight, T. E., Jacobson, S. C., Waters, L. C., Foote, R. S., Ramsey, J. M. (2000) Integrated system for rapid PCR-based DNA analysis in microfluidic devices. *Anal. Chem.*, **72**: 2995-3000.
- [18] Jacobson, S. C., Ramsey, M. (1996) Integrated microdevice for DNA restriction fragment analysis. *Anal. Chem.*, **68**: 720-723.
- [19] Medintz, L., Wong, W. W., Berti, L., Shiow, L., Tom, J., Scherer, J., Sensabaugh, G., Mathies, R. A. (2001) High-performance multiplex SNP analysis of three hemochromatosis-related mutations with capillary array electrophoresis microplates. *Genome Res.*, **11**: 413-421.
- [20] Ueda, M., Kiba, Y., Abe, H., Arai, A., Nakanishi, H., Baba, Y. (2000) Fast separation of oligonucleotide and triplet repeat DNA on a microfabricated capillary electrophoresis device and capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, **21**: 176-180.
- [21] Liu, S., Shi, Y., Ja, W. W., Mathies, R. A. (1999) Optimization of high-speed DNA sequencing on microfabricated capillary electrophoresis channels. *Anal. Chem.*, **71**: 566-573.
- [22] Schmalzing, D., Koutny, L., Adourian, A., Belgrader, P., Matsudaira, P., Ehrlich, D. (1997) DNA typing in thirty seconds with a microfabricated device. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **94**: 10273-10278.
- [23] Ronai, Z., Guttman, A. (2000) Analytical and micro-preparative capillary gel electrophoresis of DNA fragments. *American Laboratory*, **32**: 28-31.
- [24] Heiger, D. N., Cohen, A. S., Karger, B. L. (1990) Separation of DNA restriction fragments by high performance capillary electrophoresis with low and zero crosslinked polyacrylamide using continuous and pulsed electric fields. *J. Chromatogr.*, **516**: 33-48.
- [25] Karger, B. L., Chu, Y. H., Foret, F. (1995) Capillary electrophoresis of proteins and nucleic acids. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, **24**: 579-610.
- [26] Collins, F. S. (1999) Microarrays and macroconsequences. *Nature Genetics Supplement*, **21**: 2.
- [27] Guttman, A., Barta, C., Szoke, M., Sasvari-Szekely, M., Kalasz, H. (1998) Real-time detection of allele-specific polymerase chain reaction products by automated ultra-thin-layer agarose gel electrophoresis. *J. Chromatogr. A*, **828**: 481-487.
- [28] Nemoda, Z., Ronai, Z., Szekely, A., Kovacs, E., Shandrick, S., Guttman, A., Sasvari-Szekely, M. (2001) High throughput genotyping of repeat polymorphism in the regulatory region of serotonin transporter gene by gel microchip electrophoresis. *Electrophoresis*, **22**: 4008-4011.
- [29] Ronai, Z., Guttman, A., Nemoda, Z., Staub, M., Kalasz, H., Sasvari-Szekely, M. (2000) Rapid and sensitive genotyping of dopamine D4 receptor tandem repeats by automated ultrathin-layer gel electrophoresis. *Electrophoresis*, **21**: 2058-2061.
- [30] Fodor, S. P., Read, J. L., Pirrung, M. C., Stryer, L., Lu, A. T., Solas, D. (1991) Light-directed, spatially addressable parallel chemical synthesis. *Science*, **251**: 767-773.
- [31] Becker, H., Gartner, C. (2000) Polymer microfabrication methods for microfluidic analytical applications. *Electrophoresis*, **21**: 12-26.
- [32] Duggan, D. J., Bittner, M., Chen, Y., Meltzer, P., Trent, J. M. (1999) Expression profiling using cDNA microarrays. *Nature Genetics Supplement*, **21**: 10-14.
- [33] Hacia, J. G. (1999) Resequencing and mutational analysis using oligonucleotide microarrays. *Nature Genetics Supplement*, **21**: 42-47.
- [34] Kricka, L. J. (2001) Microchips, microarrays, biochips and nanochips: personal laboratories for the 21st century. *Clin. Chim. Acta*, **307**: 219-223.
- [35] Ronai, Z., Barta, C., Sasvari-Szekely, M., Guttman, A. (2000) DNA analysis on electrophoretic microchips, Effect of operational variables. *Electrophoresis*, **22**: 294-299.
- [36] Barta, C., Ronai, Z., Nemoda, Z., Szekely, A., Kovacs, E., Sasvari-Szekely, M., Guttman, A. (2001) Analysis of dopamine D4 receptor gene (DRD4) polymorphism using microchip electrophoresis. *J. Chromatogr. A*, **924**: 285-290.



**1. ábra** Az elektroforetikus mikrochip berendezés felépítésének vázlata. A: áramforrás, B: elektroforetikus mikrochip, C: lézer, D: mikroszkóp objektív, E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>: tükrök, F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>: optikai lencsék, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>: optikai szűrők, H: detektor (PMT)

**I. táblázat** Az injektálás és az elválasztás során alkalmazott feszültségértékek és a DNS vándorlása az egyes csatornáknban.

Tartály	1	2	3	4	Negatív töltésű részecskék vándorlása
Injektálás (V)	240	480	240	0	
Elválasztás (V)	0	250	1650	250	

# FELHÍVÁS

## kutatócsoportok, vállalkozások részére

Részvétel az EU Kutatási, Technológiafejlesztési és Demonstrációs programjaiban

Az Európai Unió 5. és immár 6. Kutatási, Technológiafejlesztési és Demonstrációs Keretprogramjában (EU 5. és EU 6. KTF keretprogram) való minél nagyobb mértékű és jobb minőségű magyar részvétel elősegítésére a **Magyar Élelmiszeripari Tudományos Egyesület (MÉTE)**, a **Szent István Egyetem Élelmiszertudományi Kara (SZIEÉTK)**, a **Földművelésügyi és Vidékfejlesztési Minisztérium Műszaki Intézete (FVM MI)**, a **Központi Élelmiszertudományi Kutató Intézete (FVM-KÉKI)**, a **MTA Növény-**



**védelmi Kutatóintézete (MTA NKI)** és a **Bio-kultúra Egyesület (BKE)** konzorciális megállapodást hoztak létre. A konzorcium általános információgyűjtést (az EU 5. és EU 6. KTF tájékoztatók és pályázatok rendszeres figyelése, feldolgozása, rendszerezése, szűrése és nyilvántartása), -ismertetést és konzorciális partnerkövetést végez, valamint igény szerint közreműködik a pályázatok megírásában és a projektmenedzselésben az alábbi specifikus EU 6. KTF programok és kulcsakciók területén:

### Aktuális információk az EU 6. keretprogramjáról



#### Új elemek a 6. keretprogramban:

- Új terminológia, új eszközök
- Nagyobb költségvetésű projektek
- Egyszerűbb adminisztráció
- Új finanszírozási formák
- Elszámolás a nemzeti szabályok szerint
- A kutatói mobilitás fokozása
- A nők részvételének támogatása

#### A 6. keretprogram szerkezete:

- **I/A Tematikus prioritások:**
  1. Genomika és biotechnológia az egészség szolgálatában
  2. Információs társadalom technológiái
  3. Nanotechnológia
  4. Repüléstechnika és űrkutatás
  5. Élelmiszer-minőség és -biztonság
  6. Fenntartható fejlődés, Globális változások és Ökoszisztémák
  7. Polgárok és kormányzás a tudásalapú társadalomban
- **I/B Specifikus kutatási aktivitások:**
  1. A tudományos és technológiai szükségletek előrejelzése
  2. Kis- és középvállalkozások részvételének támogatása
  3. A Közös Kutatóközponti (JRC) hálózattal kapcsolatos tevékenységek

#### Új eszközök a 6. keretprogramban:

**Kiválósági Hálózatok – Networks of Excellence**  
(célja a meglévő kutatási kapacitások integrálása a különböző kutatási területeken közös programok segítségével)

Jellemzői:

- Hosszú távú (5 évet meghaladó) közös program kidolgozása.
- A projekt költségvetése több mint 10M euro.
- A támogatás csökkenő, cél az önfenntartás
- Résztvevők min. 3 országból (pl. 2 tagállam + 1 csatlakozó ország)
- Új partnerek folyamatos bevonásának lehetősége

**Integrált Projektek – Integrated Projects**

(célja új tudásbázis létrehozása az európai versenyképesség növelése érdekében, az egyetemek és az ipar szoros kutatás-fejlesztési együttműködése)

- A projekt futamideje 3–5 év
- A projekt költségvetése több mint 10M euro.
- A támogatás hozzájárulást biztosít a költségekhez, aminek felhasználásáról a konzorcium önállóan dönthet
- Résztvevők min. 3 országból (pl. 2 tagállam + 1 csatlakozó ország)
- Új partnerek folyamatos bevonásának lehetősége

**A 6. keretprogram teljes költségvetése várhatóan 16270M euro és a végleges programok meghirdetése 2002 novemberében várható.**

**Ezek eléréséhez néhány hasznos honlap:**

The Commission's proposal for a Sixth Framework Programme (2002–2006):

<http://europa.eu.int/comm/research/nfp.html>

EC Joint Research Center: <http://www.jrc.cec.eu.int>

További információk: <http://www.julia-nki.hu>

# A nanobaktériumok világa

## The world of nanobacteria

Bókkon István

Fodor József Országos Közegészségügyi Központ,  
Országos Kémiai Biztonsági Intézet, 1096 Budapest,  
Nagyvárad tér 2.

### Összefoglalás

A cikk összefoglaló képet nyújt – saját gondolatokkal tűzdelve – a nanobaktériumok érdekes, még mikrobiológusok által is alig ismert világáról. A nanobaktériumok szokatlan tulajdonságai jó példát szolgáltatnak arra, hogy a természet számos esetben rácăfol arra, amire mi, kutatók azt mondjuk, nem lehetséges.

### Bevezetés

A nanobaktériumok felfedezése a geológiai kutatásokkal kapcsolatos. Robert L. Folk a Texasi Egyetem geológusa két évtizeddel ezelőtt arról számolt be, hogy talaj- és kőzetminták mikroszkópos képeiben 100 nanométernél kisebb átmérőjű baktériumok találhatóak [1]. Az elméleti számítások szerint ekkora baktériumok nem létezhetnek, mivel a baktériumok esetében maga a sejtfal 10 nm vastag, és a riboszóma, amelyen a proteinek szintézise történik, 25 nm nagyságú. Akárhogy is, a nanobaktérium fossziliák jelenléte ma már tény a több milliárd éves dolomitokban és mészkövekben [2,3]. Folk szerint ezek a baktériumok jelentős szerepet játszhattak a földközetek létrejöttében, mivel képesek különféle ásványokat precipitálni. Folk geológusként még nanoplanktonoknak nevezte a felfedezett kisméretű baktériumokat. R.Y. Morita a Kanadai Mikrobiológiai Folyóiratban (*Canadian Journal of Microbiology*) nevezi e képződményeket először nanobaktériumoknak [4]. A nanobaktériumok történetéhez tartozik a NASA egy kutatócsoportjának beszámolója arról, hogy az Antarktisz jegében talált és bizonyítottan a Marsról származó ALH84001 meteoritban 20–50 nm átmérőjű – ekkor már terminus technicusként használt – nanobaktérium fossziliákat találtak [5].

A nanobaktériumokkal szorosan egybefonódik E.

Bókkon, I.

National Institute of Chemical Safety,  
H-1096 Budapest, Nagyvárad tér 2., Hungary

### Summary

This article provides an overview – along with certain own ideas – on the interesting world of nanobacteria hardly known even by microbiologists. The unusual features of nanobacteria beautifully illustrate that nature can confute us, researchers in numerous cases, when we believe certain phenomena impossible.

Olavi Kajandernek, a finn Kuopio Egyetem biológusának neve. Kajander a kilencvenes évek legelején egy kísérletsorozata során emlőssejteket tenyésztett, amelyek nem a szokásos módon szaporodtak. A sejtek nagyon lassan növekedtek és citoplazmájuk abnormális vakuolákat tartalmazott. Az emlőssejteket általában a borjúvérrel kiegészített táptalajon tenyésztik. A táptalaj legtöbbször steril, bár néha (fertőzés kapcsán) tartalmaz vírusokat és mikoplazmákat (sejtfal nélküli baktériumok), amelyek nehézségeket okozhatnak a sejtek tenyésztésekor. Kajander és kollégái elektronmikroszkóp segítségével próbálták kideríteni a szaporodás gátlásának okát, de nem találtak a sejtenyészetekben vírusokat és mikoplazmákat sem. Ugyanakkor számos sejtben kis baktériumokat figyeltek meg. A felfedezést követően éveken keresztül tanulmányozták az 50–500 nm nagyságú, nanobaktériumoknak keresztelt mikroorganizmusokat. Kajander vizsgálatai kimutatták, hogy a borjúsérum és ritkábban az emberi vér is tartalmaz vírus nagyságú nanobaktériumokat. Kajander eredményei – hasonlóan Folk kőzetekben talált nanobaktériumaihoz – frusztrálták a legtöbb biológust, akik nem vették komolyan állításait. A nanobaktériumok esete hasonló a *Helicobacter pylori*hoz. A tudósok sok évig nem fogadták el azt a ma már tényként ismert jelenséget, hogy a fekélyek nagy részét a *Helicobacter* baktériumok okozzák.

1998. július 7-én Kajander és kollégái újabb felfedezésről számoltak be a finnországi Nemzeti Tudományos Akadémián [6]. A beszámoló szerint az emberi vizeletben nanobaktériumok élnek, amelyek kalciumot és más ásványi anyagokat választanak ki maguk körül úgy, hogy kristályosodási magot képezve indukálják a vesekőképződést. A kutatásaik szerint egyes antibiotikumok meggátolhatják a krónikus vesekőképződéseket. A nanobaktériumok okozta vesekőképződés elmélete már számos kutatónak felkeltette az érdeklődését. A nanobaktériumok javasolt tudományos neve: *Nanobacterium sanguineum*, utalva kis méretükre, előfordulási helyükre és egészségkárosító voltaikra.

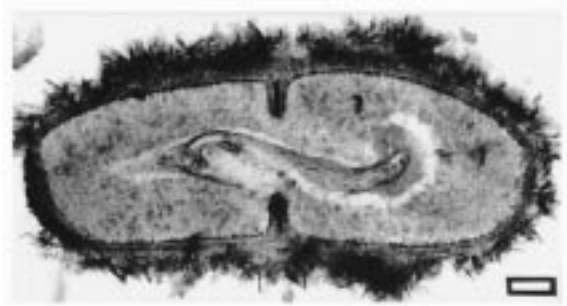
### Szaporodás és táplálkozás

Miért nem fedezték fel a mikrobiológusok mostanáig a nanobaktériumokat? Az egyik ok a már említett tényező, hogy elméletileg nem létezhetnek ilyen kis méretű baktériumok. A másik, hogy tradicionális fénymikroszkópokkal nem nagyon lehet észrevenni őket, valamint a szokásos sejtalfestékek sem kötődnek hozzájuk. A nanobaktériumok alakja legtöbbször gömbölyű vagy ovális, de a körülményektől függően számos növekedési formát, alakot és közösségi formát mutatnak. A közösségi formák főleg környezeti stressz esetén képződnek. A nanobaktériumok gyakran formálnak fehér biofilmeket, amikor szérumban egyedül vagy emlőssejtekkel együtt növesztik őket.

Míg a közönséges baktériumok általában óránként vagy kisebb időintervallumban osztódnak, addig a nanobaktériumok 1–5 naponként duplázódnak meg, ami különösen nehézé teszi a metabolizmusuk tanulmányozását [7]. A baktériumtenyésztésnél alkalmazott közegekben a nanobaktériumok nem szaporodnak. Tenyésztésük emlőssejtekkel vagy azok nélkül, borjúvérszérumban, 5–10% széndioxid jelenlétében lehetséges. Az eddig ismert legkisebb baktériumok a *Mycoplasma*, *Chlamydia* és *Rickettsia* szintén az emlőssejtek tenyésztésének

feltételeit igénylik, és csak a *Mycoplasma* képes autonóm is növekedni.

A tenyésztés alatt a nanobaktériumok mérete nő, amelyet a sejt körül kialakuló vastag szervesetlen precipitátum okoz, amely egyben láthatóvá is teszi a fénymikroszkóp alatt. A körülményektől függően drasztikusan változik egyedi méretük. Kedvezőtlen körülmények esetén hatalmas, több milliméter nagyságú multicelluláris egységeket alkotnak. A nanobaktériumok – a mikoplazmákhoz hasonlóan – képesek pszeudokolóniákat alkotni. Alkalmos feltételek esetén önállóan replikálódnak, míg kedvezőtlen feltételek esetén szaporodásuk vírusszerű. A szaporodás detektálható specifikus ELISA teszttel, optikai denzitásméréssel, mikroszkópos számolással, SDS-PAGE gélelektroforézissel vagy jelölt metionin és uridin beépülésének követésével. A szaporodás gátolható nagy dózisú aminoglikozid antibiotikummal, EDTA-val, citozin-arabinózzal és gamma-sugárzással. Az emlős sejt kultúrák 80%-ánál mutattak ki nanobaktériumokat, amelyek csak akkor okoznak problémát, ha elég nagy relatív koncentrációban vannak jelen a sejtekhez képest. Ez főleg sejtklónozáskor és hosszú ideig tartó kísérletek esetén fordul elő.



**1. ábra** „Hajszerű” apatit kristályréteggel borított, osztódásban lévő nanobaktérium transzmissziós elektronmikroszkópos képe. (Az ábra jobb alsó sarkában jelzett szakasz hossza 100 nm.) Engedélyezett újraközlés / reproduced with permission, Kajander and Çiftçioğlu (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95: 8275 [7].



**Bókkon István** 1989-ben mint vegyészmérnök, 1991-ben mint okleveles biológus mérnök végzett a Budapesti Műszaki Egyetemen. Környezetvédőként, majd magántanárként dolgozott. Jelenleg az Országos Közegészségügyi Központ kutatója. Tudományos tevékenységében egymástól távol álló tudományterületek témáit törekszik összefoglalni, átlátni, és új gondolatokat felvetni adott témával kapcsolatban. Foglalkozott többek között az elektromágneses sugárzás biokémiai hatásaival, az agy információátvitelének új szemléletű vizsgálatával, endotoxinokkal, antioxidánsokkal.

A normál baktériumok komplex metabolikus rendszerek, amelyek fennmaradásukhoz aktív transzportot és mozgásokat igényelnek. A koncentrált metabolitok miatt a belső nyomás 3–5 bar, és a metabolizmus gyors. Kedvezőtlen feltételek között ezek a nagy baktériumok elpusztulnak, mert nem tudják fenntartani az iongradiensüket. A nanobaktériumokban a sejten belüli ozmotikus nyomás kicsi, így lassú a metabolizmus. A lassú metabolizmus megengedi, hogy minimális számú enzimet használjanak, mert számos reakciót nem kell katalizálni. Ahol mégis szükséges a katalizálás, megtörténhet fémek és ásványok segítségével is. Kis méretük miatt a táplálkozásban a diffúzió és Brownmozgás lehet a meghatározó, amely megmagyarázhatja a forrásponthoz közeli hőmérséklettel szemben tanúsított ellenállásukat [8]. A nanobaktériumok a kész aminosavakat és zsírsavakat a környezetből (pl. médiumból) veszik fel. Abban az esetben, ha zsírsavakat nem képesek felvenni, akkor a membránban lévő lipidjeiket részlegesen apatittal képesek helyettesíteni.

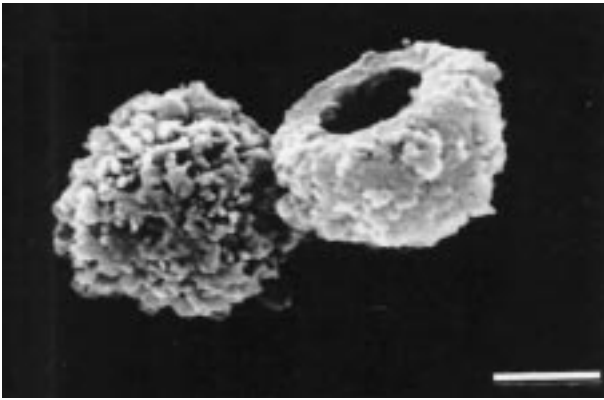
### Litogenezis

A precipitáció során egy adott só koncentrációja eléri az oldatban a telítettségi, majd a túltelítettségi szintet. Az utóbbi termodinamikailag nem stabil, ezért nuklealizációhoz vezet, amit az oldat szabadenergiája biztosít. A nuklealizáció eredményeként csökken a szabad energia, és termodinamikailag stabil állapot alakul ki. A nuklealizációt követő aggregáció a kristálynövekedés meghatározó lépése. A vesekövek esetében további lényeges faktor, hogy az urothelium visszatarthatja a képződött mikrokristályokat [9]. A röviden vázolt precipitációs folyamat a valóságban sokkal bonyolultabb, melyben genetikai, mikrobiológiai, táplálkozási és környezeti faktorok érvényesülnek, mint fő meghatározók. Természetesen a fontosabb faktorok kölcsönösen befolyásolják egymást. Például, az egyed válasza adott mikrobiológiai kihívásra függ az egyén genetikai determináltságától.

A patológiai litogenezis – sokrétűsége ellenére – a legtöbb esetben összefüggésbe hozható valamilyen mikroba jelenlétével. Az analitikai elemzések már régen rávilágítottak arra, hogy a nagy kristályok kisebb krisztallitokból állnak, közöttük szerves mátrisszal [10]. Ez a szerves mátrix számos esetben mikroba eredetű. Biokémiailag a vesekövek mukopro-

teineket, mukopoliszacharidokat, szerves anyagokat és kötött vizet tartalmaznak. Az élő (funkcionáló) és nem élő (sejtdegradációs termék) szerves makromolekuláknak döntő szerepük lehet a sejteken belüli, illetve kívüli kőképződésben. A proteolipidet tartalmazó membránok mint kiindulási magok működhetnek a kőképződésben [11]. A kísérletek szerint a mitokondriumok és a sejt közötti állományban lévő ciszták/hólyagocskák membránjai gyakran indukálnak patológiás kalcifikációt [12]. Ha ezt gondolatban összekapcsoljuk azzal, hogy az endoszimbiózis révén létrejött eukarióta sejtek több lépcsőben anaerob prokariótákból alakultak ki, akkor valószínű, hogy a litogenezisben is azonos és egyszerű mechanizmusok működnek. Pontosabban, azonos mechanizmusok dolgozhatnak a patogén mikrobák által okozott kalcifikáció, valamint a sejt mitokondriumok és sejtmembránok által okozott kalcifikáció esetében.

A mitokondriumok intracelluláris, míg a külső hólyagocskák extracelluláris kalcifikációt iniciálhatnak. A mitokondriumok és ciszták esetében a kőképződést a membránhoz kötött foszfatáz enzimek és kalciumkötő foszfolipidek közötti kölcsönhatás váltja ki. Extracelluláris kalcifikáció esetében iniciáló folyamatként a mátrix hólyagocskák savas foszfolipidjei vonzzák a kalciumot, amely komplexet képez a foszfáttal és proteinnal [13]. A továbbiakban a hólyagocskák körüli mátrix körülményei határozzák meg a kristály proliferációját. A proteoglikánok, a pirofoszfát, a  $\gamma$ -karboxi-glutaminsavat tartalmazó proteinek és foszfoproteinek az anion alcsoportjaikkal, kalciumot tartalmazó közegben megkötik a  $\text{Ca}^{2+}$ -ionokat, így ezek akadályozzák a hidroxipapatit képződését és növekedését *in vitro*. Ugyanakkor a kollagén elősegíti az apatitképződést. Extracelluláris patológiás kalcifikációk találhatók az érlelmeszesedés, csont- és ízületi gyulladás, középfülgyulladás, szívbillentyű-meszesedés stb. betegségek esetében. Szövetsérülés, sejtmembrán-degradációs termékek (foszfolipidek és különösen a foszfatidil-szerin) szintén indukálhatnak litogenezist, mert a degradációs makromolekulák göcként szolgálhatnak a kalcium-apatit nuklealizációjához [14]. A membrán belső felületén lévő foszfatidil-szerinnek nagy az affinitása a kalciumhoz. Ha a sejt sérül, a foszfatidil-szerin érintkezhet az extracelluláris folyadékkal, amely felelőssé tehető a disztrofikus kalcifikációért.



**2. ábra** A szérumentes közegben tenyésztett nanobaktériumok a tenyésztőedény aljához kötődnek, és kicsiny apatitgömböcskéket hoznak létre maguk körül. Az ábrán a gömböcskék pásztázó elektronmikroszkópos képe látható. A nanobaktériumok a lyukakban helyezkednek el. (Az ábra jobb alsó sarkában jelzett szakasz hossza 100 nm.) Engedélyezett újraközlés / reproduced with permission, Kajander and Çiftçioğlu (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95: 8277 [7].

A nanobaktériumok esetében a precipitáció indukálásáért szintén makromolekulák tehetők felelősé. Az elképzelések szerint a nanobaktériumok úgy katalizálják a precipitációt, hogy a negatívan töltött sejtfalukhoz vonzzák a kationokat, ami szubmikrométer alatti skálán túltelítettséghez vezet, és elindítja a  $\text{CaCO}_3$  vagy  $\text{CaPO}_4$  (apatit) kicsapódását. A nanobaktériumok táplálkozása kapcsán már említett, nagyon érdekes megfigyelés, hogy amennyiben nem képesek zsírsavakat felvenni, a membránjukban lévő lipideket részlegesen apatittal helyettesíthetik. Jelenleg ismeretlen, hogy miért alakítanak ki a precipitáció indukálása mellett ásványburkokat (Kajander kifejezésével „castles”) maguk körül a nanobaktériumok. Még hozzá olyan ásványburkolatot, amelyből kitenyészthetők, és ami jelzi, hogy nem szunnyadó állapotban léteznek a veseköveken belül.

A nanobaktériumokat befedő karbonát-apatit ásványi rétege emlékeztet a csont struktúrájára, bár utóbbi hidroxipapatitból épül fel. A karbonát-apatit ugyanazon anyag, amelyből a legtöbb kalcifikáció és kő is kialakul az abnormális szövetekben. Úgy tűnik, hogy a csontképződés és kőképződés között azonos mechanizmusok működhetnek. Miért kaphatnak a litogenezisben különös hangsúlyt a nanobaktériumok? Azért, mert a legősibb és nagyon egyszerű anyagcseréjű prokariótákhoz tartoznak, így egy egyszerű és közös mechanizmust szolgáltathatnak a kőképződést illetően. Egyre több pato-

lógias litogenezisben igazolható a jelenlétük, vagy kimutatható az antigénjük. Képesek szaporodni a sejteken belül és kívül is. Méretüknél fogva a szervezetben mindenhova képesek eljutni áthatolva még a vér–agy gáton is. Végezetül igen ellenállóak mindenféle extrém körülménnyel szemben.

### Citotoxicitás

A marhaembrió-szérumot tartalmazó médiumban növekvő sejtenyészetek 80%-ában mutatták ki nanobaktériumok jelenlétét. Normális esetben az emlőssejtek nem engedik, hogy beléjük baktériumok inkorporeáljanak. Kísérletek során minimális tápanyag-összetételű médiumban tenyésztett fibroblast sejtkultúrát nanobaktériummal fertőztek, majd elektronmikroszkóp és monoklonális antitestek segítségével kimutatták, hogy a nanobaktériumok a fibroblastok felületére kötődtek [15]. A fibroblastsejtek – receptormediált endocitózissal vagy ehhez közeli mechanizmussal – internalizálták a nanobaktériumokat. Az internalizáció után a fibroblastsejtek abnormális apoptózist, illetve a sejtek halálát mutatták, 100 nanobaktérium/sejt koncentráció esetében. Az apoptózis indukálása megmagyarázza az emlőssejtek tenyésztésekor tapasztalt növekedésgátlást: a sejtekbe internalizált nanobaktériumok citotoxikusak a sejtek számára. Okozhatnak sejtvakualizációt, váratlan sejtlízist és egyéb problémákat a sejtek tenyésztésekor. Szerencsére a legtöbb sejtvonal gyorsabban osztódik, mint a baktériumok, így a citotoxikus hatás sokszor elkerülhető.

### Az rNS, a DNS, és a fehérjék szerveződése

Az rNS gén szekvenenciaeredményei alapján a Nanobacterium a Protobacteria alfa-2 alcsoportba sorolható. Ebbe a csoportba tartozik a Brucella és a Bartonella is, melyekről tudjuk, hogy néhány fajtája fertőzi az állatok és az emberek vérét. Valószínűsíthető a nem tradicionális DNS jelenléte is [16]. A nanobaktériumok DNS-e – a mitokondriumokéhoz hasonlóan – fluorkrómmal festhető. A nanobaktériumok DNS-mérete a mikoplazmák és mitokondriumok között helyezkedhet el. A *Mycoplasma genitalium* genommérete 0,58 MB, szemben az *Escherichia coli* 4,6 MB genomméretével. A

(folytatás a 41. oldalon)

# TERMOCYCLEREK A BIOMETRÁTÓL

Nálunk megtalálja  
az igényeinek  
legjobban  
megfelelőt

**Biometra**<sup>®</sup>  
a Whatman Company



## PIPETTÁK A RATIOLABTÓL



**ratiopetta**

Minden pipetta digitális és autoklávozzható.

1 csatornás - rövid és átlagos hosszúságban,  
méréstartományuk: 0,5-1000  $\mu$ l

8-12 csatornás pipetták,  
méréstartományuk: 0,5-300  $\mu$ l

**ratiolab**<sup>®</sup>

Képviselet és szervíz:

**NOVO-LAB**



1191 Budapest, Üllői út 200. Tel./Fax: 281-3692 Levélcím: 1680 Budapest, Pf.: 21. e-mail: info@novolab.hu





Drégely László, *Labirintus* (1972), olaj, lenvászon, faroston

Munkásságában szembeszökő kísérletező kedve: a kompozíció szerkezetében a képi jelek hol spontán elszórtságban, hol szisztematikus rendszerben mutatkoznak. Hasonlóan kísérletezik a jelsűrűséggel is: itt hatalmas tereket üresen hagy, másutt alakjait egymásra zsúfoltságban helyezi el. S a szokványostól még elrugaszkodottabb,



Drégely László, *A lélek titkos emlékei* (1978), akril, farost

merész módon kísérletezik az anyaggal: fest hagyományos felületekre, papírra, vászonra, farostlemeze, de domborított, vésett vagy szerszámmal megmunkált fémlapra is – az alumíniumot különösen kedveli, s festményeiben, plakátjaiban és applikációiban egyaránt használja. Álomszerű, szimbolikus képi világa, mely Kondor Bélát is megihlette, erőteljes jelképrendszerre épül, mely ősi szimbólumokat, illetve a modern életből vett, allegorikussá emelt tárgyakat egyaránt szerepeltet, a szürrealizmusra jellemző, hol szerkesztett, hol kaotikusra formált elrendezésben. Hubay Miklós szavaival: „Sok festő felfedezte már az álom asszociatív gazdagságát, de kevesen ismerik az álom paradoxonát. Hogy szabadság is, és rögeszme is, egyszerre. Szabad asszociáció is, és e szabadságban valami görcsös *ostinato*-val vissza-visszatérő motívum: ez az álom paradox sajátossága. Az onirikus ábrázolásban aki ezt az ellentmondásos kettősséget nem viszi végbe, biztosan kiesik az álomlogikából. Ezt viszont halálos biztonsággal – mondhatni: az alvajárók biztonságával – tudja Drégely. Jelképet jelkép után előugratni, s utána a szabad asszociációnak épp a szabadságáról lemond és kényszerpályára áll egyetlen pont körül. ... Drégely László valamennyi képe: egy-egy vissza-visszatérő álma – nekünk meg: legszemélyesebb álmainkban kamatozó ajándék.”

Drégely László további munkái megtekinthetők az alábbi internetcímen: <http://www.virtuarnet.hu/xxmagyar.htm>

**Drégely László** (1932–1990) 1953-ban végzett a Magyar Iparművészeti Főiskolán, ahol mesterei Bálint Endre, Gadányi Jenő és Litkei József voltak. Dízlettervezőként dolgozott, 1958 és 1978 között a Magyar Televízió alkalmazásában, valamint budapesti színházak és több filmprodukciónak részére. Eközben festői és grafikai munkásságot is folytatott, szuverén kompozíciós, tárgyi szimbólum- és jelrendszer kialakításával. 1962 óta állított ki, hazai tárlatai mellett nagyszámú külföldi kiállításán, főként Franciaországban, Hollandiában, Németországban és Kanadában, művei Európa, az USA és Kanada magángyűjteményeiben is megtalálhatók. Kitüntetései, díjai: Balázs Béla-díj (1972), Érdemes művész (1977), Budapestért emlékérem (1980).



Drégely László, *Etűd IV.* (1978), akril, farost



Drégely László, *Csendélet szoborral* (1974), olaj, lenvászon, faroston

Folytatás a 38. oldalról

Saccharomyces élesztő mitokondriumában 35, nukleáris genomjában körülbelül 290 gén van [17]. A mitokondriumok valószínűleg számos gént veszítettek el az eukarióta sejtekbe történő domesztifikációjuk közben. Ez jelzi, hogy a metabolikus együttműködés a baktériumok vagy a baktériumok és más organizmusok között szignifikánsan csökkentheti a szükséges genomméretet. A metabolikus együttműködés további magyarázatot szolgáltat arra, hogy a nanobaktériumok igen egyszerű anyagcseréjük ellenére mégis létezhetnek.

A nanobaktériumok SDS-PAGE gélelektroforézise több mint 30 proteinsávot mutatott [Kajander és mtsai, valamint James Coulton (McGill Egyetem), nem publikált eredmény]. Igazolták a muraminsav jelenlétét (tipikus komponense a peptidoglikánnak), amely az összes valódi baktérium sejtfalában megtalálható. Valamint 6 protein aminoterminális szekvenciáját elemezve megállapították, hogy a hat közül az egyik a porin protein működéséhez szükséges. A porin proteinek tipikusan a Gram-negatív baktériumokat jellemzik: a külső membránban helyezkednek el, és lehetővé teszik, hogy a viszonylag kicsiny és vízdékony molekulák keresztüljussanak rajta. Ennek alapján a nanobaktériumok sejtfala Gram-negatív jellegű, bár ultrastruktúrájuk különleges, és változik a növekedési fázis alatt.

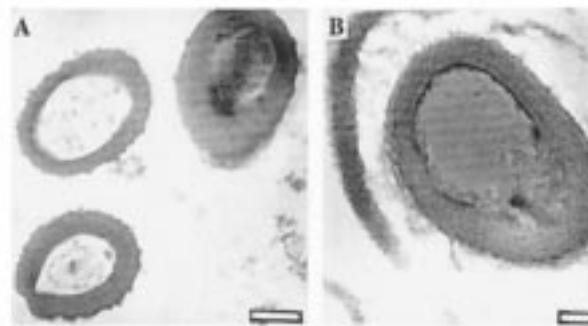
A poliaminok a sejtek osztódásához általában esszenciálisak. A baktériumok poliaminja a putreszcin és a spermidin, bár tartalmazhatnak kb. 30 egyéb di- és poliamint. Ezeket mint filogenetikai eszközöket használják [18]. A putreszcin és spermidin génei hiányoznak a *Mycoplasma genitalium*, *Borrelia burgdorferi* és *Treponema pallidum* baktériumokból. A *Haemophilus influenzae* putreszcin, a *Helicobacter pylori*, a *Mycobacterium tuberculosis* és az *E. coli* putreszcin és spermidint is képesek előállítani. A nanobaktériumok nem képeznek putreszcin és spermidint sem, ehelyett egy speciális poli-amint a kadaverint szintetizálják, amit számos eubaktérium használ mint a peptidoglikánnak egy kovalensen kötött komponensét.

### A nanobaktériumok lehetséges szerepe a patogén kalcifikációkban

Speciális antitestekkel igazolták, hogy a finn lakosság 5%-a fertőzött nanobaktériumokkal. Úgy tűnik,

hogy a nanobaktériumok összefüggésbe hozhatók a különféle szövetekben előforduló megmagyarázatlan patológiás extraszkeletális kalcifikációkkal, mint az arteriosclerosis, arthritis és demenciák [19,20]. Nanobaktériumokból származó proteinek találtak emberi vérben és vérszérummintákban, de nem a vér az elsődleges előfordulási helyük. Állatokba injektálva gyorsan a vesékbe, majd a vizeletbe migrálnak, sőt egy év után a gerincvelői folyadékból is kimutatható a jelenlétük.

Kajander és munkatársai finn betegekből származó 72 vesekövet vizsgáltak [21]. A kísérlet során a köveket 1 N sósavban oldották fel. A nanobaktériumok meglepően rezisztensek voltak a sósavra, mert a kövek 91,3%-ából kitenyészthetőek voltak. A nanobaktériumokon kívül, csak a struvit (ammónium-magnézium-foszfát) kövekben találtak közös baktériumokat. Az apatit kövek nagyobb antigénjelet adtak, mint a más típusúak, és a nanobaktériumantigének jelenléte nem függött a kő típusától. További kísérletek során Kajander és munkatársai nanobaktériumokat, illetve antigénjeiket mutatták ki a policisztás vesebetegéknél, valamint máj-cisztafolyadékból és vizeletből [22]. A nanobaktériumok valószínűleg jelen vannak a sejt kultúrák segítségével készített vakcinákban, a  $\gamma$ -globulin- és más antitestkészítményekben. Mivel lassan osztódnak, jelenlétük esetleg krónikus autoimmun betegségekkel is összefüggésbe hozható.



**3. ábra** Nanobaktériumok extra- és intracelluláris kalcifikációja. Fetális marhaszérumból tenyésztett (A) és demineralizált vesekőben kimutatott nanobaktériumok (B) TEM mikrográfiai képe. A vesekőből származó, apatitréteggel körülvett nanobaktérium morfológiáját tekintve hasonlít a szérumból kitenyészített, maguk körül szintén apatitréteget létrehozó nanobaktériumokhoz. (Az ábrák jobb alsó sarkában jelzett szakaszok hossza A: 200 nm, B: 50 nm.) Engedélyezett újraközlés / reproduced with permission, Kajander and Çiftçioglu (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95: 8278 [7].

## A nanobaktériumok növekedésének gátlása, sterilizálásuk

A szokásos sterilizálási folyamatokkal szemben a nanobaktériumok ellenállóak. A vírusokhoz hasonlóan 1 Mrad sugárzást képesek elviselni. Emellett – valószínűleg ásványi burkuk miatt – ellenállóak a legtöbb antibiotikummal szemben is, de kis dózisu tetraciklin (akkumulálódik az apatiton és koncentrálnálódik a baktérium közelében) vagy nagy koncentrációjú aminoglikozid antibiotikummal növekedésük gátolható (mindkét antibiotikum a bakteriális proteinszintézisre hat riboszóma szinten). A tetraciklin és a citrát *in vitro* gátolta a nanobaktériumok növekedését [22], de hatásosak továbbá a citozin arabinozid és fluorouracil antimetabolitok is, amelyek az összes sejttypusban gátolják a nukleinsavszintézist.

A klinikai kísérletek igazolták, hogy nincs szignifikáns kapcsolat a C- és a B<sub>6</sub>-vitamin napi felvétele és a vesekőképződés között [23]. Sőt Cathcart szerint – aki 11000 betegének adott 1969-től kezdve nagy dózisu (1–2 gramm/nap) C-vitamint – a C-vitamin képes meggátolni a vesekőképződést [24]. A nagy dózisu aszkorbinsav bevitele növeli az aszkorbinsav-kiválasztást a vizeletbe, és valószínűleg elpusztítja a baktériumokat, emellett komplexet képez a vizeletben lévő Ca<sup>2+</sup>-ionokkal, csökkentve így a kalcium-oxalát-képződés lehetőségét [25], harmad-sorban pedig növeli az immunrendszer hatékonyságát. Cathcart szerint a nagy dózisu aszkorbát szervezetbe juttatása a nanobaktériumok esetében is hatásos. Az emelt szintű folyadékbevitel a nanobaktériumok okozta kőképződés esetében is javasolt, mert a hidratáció hatásos a kőképződés megelőzésében.

*In vitro* kísérletek szerint a magnézium gátolja a heterogén apatitképződést [26]. Mivel a magnézium kalciumantagonista, és több mint 300 enzim működésében vesz részt, valószínű, hogy a nanobaktériumok okozta kőképződésben is hatásos lehet a megnövelt Mg-felvétel.

Bár a nanobaktériumok körül még számos ellentmondás mutatkozik, lényeges lenne további kutatásokat végezni e témában, mert ezen ősi baktériumok olyan egyszerű biomechanizmusokra szolgáltathatnak adatokat, amelyek elősegíthetik az alapvető sejtbiológiai folyamatok megértését és ezen keresztül a gyógyítást. Bárhogy legyen is, Bennett L. cikke [27] – *Are all diseases infectious?* cím-

mel – elgondolkoztató, hiszen a biológiai kutatások eredményei egyre inkább azt jelzik, hogy a legtöbb betegség összefüggésbe hozható valamilyen mikroba jelenlétével.

## Irodalomjegyzék

- [1] Travis, J. (1998) The bacteria in the stone. *Science News*, **154**: 75.
- [2] Folk, R. L. (1992) Bacteria and nanobacteria revealed in hard grounds, calcite cements, native sulfur, sulfide materials, and travertines. *Geol. Soc. Amer., Annual Meeting, Program Abstracts.*, 104.
- [3] Folk, R. L. (1993) Dolomite and dwarf bacteria (nanobacteria). *Geol. Soc. Amer., Annual Meeting, Program Abstracts.*, A-397.
- [4] Morita, R. Y. (1998) Bioavailability of energy and starvation survival in nature. *Can. J. Microbiol.*, **34**: 436-441.
- [5] McKay, D. S., Gibson, E. K., Thomas-Keptra, K. L., Vali, L. H., Romanek, C. S., Clemett, S. J., Chillier, Z. D. F., Maechling, C. R., Zare, R. N. (1996) Search for past life on Mars: possible relic biogenic activity in Martian meteorite ALH84001. *Science*, **273**: 924-926.
- [6] Ciftcioglu, N., Kajander, E. O. (1998) Interaction of nanobacteria with cultured mammalian cells. *Pathophysiol.*, **4**: 259-270.
- [7] Kajander, E. O., Ciftcioglu, N. (1998) Nanobacteria: An alternative mechanism for pathogenic intra- and extra cellular calcification and stone formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **95**: 8274-8279.
- [8] Björklund, M., Ciftcioglu, N., Kajander, E. O. (1998) Extraordinary survival of nanobacteria under extreme conditions. *Proc. SPIE*, **3441**: 123-129.
- [9] Mandel, M., (1996) Mechanism of stone formation. *Semin. Nephrol.*, **5**: 364-374.
- [10] Cheng, P. T., Reid, A. D., Pritzker, K. P. (1985) Ultrastructural studies of crystal-organic matrix relations in renal stones. *Scan. Electron. Microsc.*, **1985**: 201-207.
- [11] Boyan, B. D., Landis, W. J., Knight, J., Dereszewski, G., Zeagler, J. (1984) Microbial hydroxyapatite formation as a model of proteolipid-dependent membrane-mediated calcification. *Scan. Electron. Microsc.*, **1984**: 1793-1980.
- [12] Anderson, H. C. (1988) Mechanism of pathologic calcification. *Rheum. Dis. Clin. North Am.*, **2**: 303-319.
- [13] Anderson, H. C. (1981) Normal and abnormal mineralization in mammals. *Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs.*, **27**: 702-708.
- [14] Kim, K. M. (1983) Lipid matrix of dystrophic calcification and urinary stone. *Scan. Electron. Microsc.*, **1983**: 1275-1284.
- [15] Ciftcioglu, N., Kuronen, K., Akerman, K., Hiltunen, E., Laukkanen, J., Kajander, O. (1997) New potential threat in antigen and antibody products: Nanobacteria. In: Vaccines 97 (Brown, F., Burton, D., Doherty, P., Mekalanos, J., Norrby, E., Eds) (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York), pp. 99-103.
- [16] Kajander, E. O., Kuronen, I., Akerman, K., Pelteri, A., Ciftcioglu, N. (1997) Nanobacteria from blood, the smallest culturable, autonomously replicating agent on Earth. *Proc. SPIE*, **3111**: 420-428.
- [17] Hodges, P. E., Payne, W. E., Garrels, J. I. (1998) Yeast protein database (YPD): a database for complete proteome of *Saccharomyces cerevisiae*. *Nucleic Acids Res.*, **26**: 68-72.
- [18] Hamana, K., Matsuzaki, S. (1992) Polyamines as a chemotaxonomic marker in bacterial systematics. *Crit. Rev. Microbiol.*, **18**: 261-283.
- [19] Carson, D. A. (1998) An infectious origin of extra skeletal calcification. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **95**: 7846.
- [20] Miller-Hjelle, M. (1999) Living nanobacteria recovered from human cystic kidney and liver fluids. *99th General Meeting, Amer. Soc. Microbiol.*, May 30-Jun 3. Chicago, Illinois. Session 112, Paper C193.
- [21] Ciftcioglu, N., Björklund, M., Kuorikiski, K., Bergstrom, K., Kajander, E. O. (1999) Nanobacteria: An infectious cause for kidney stone formation. *Kidney Int.*, **56**: (5) 1893-1898.
- [22] Hjelle, J. T., Miller-Hjelle, M. A., Poxton, I. R., Kajander, E. O., Ciftcioglu, N., Jones, M. L., Caughey, R. C., Brown, R., Millikin, P. D., Darras, F. S. (2000) Endotoxin and nanobacteria in polycystic kidney disease. *Kidney Int.*, **57**: 2360-2374.
- [23] Curhan, G., Willett, W., Rimm, E., Stampfer, M. (1996) A prospective study of the intake of vitamins C and B6 and the risk of kidney stones in men. *J. Urol.*, **155**: 1847-1851.
- [24] Cathcart, R. F. (1985) Vitamin C: the nontoxic, nonrate-limited, antioxidant free radical scavenger. *Medical Hypotheses.*, **18**: 61-77.
- [25] Lewin, S. (1976) In: Vitamin C: Its molecular biology and medical potential. (Academic Press, London).
- [26] Okazaki, M., LeGeros, R. Z. (1996) Properties of heterogeneous apatites containing magnesium, fluoride, and carbonate. *Adv. Dent. Res.*, **10**: 252-259.
- [27] Bennett, L. (1999) Are all diseases infectious? Another look. *Ann. Intern. Med.*, **131**: 989-990.

## Internetes Irodalom:

<http://www.nationalacademies.org/ssb/nanopanel2kajander.htm>  
[http://naturalscience.com/ns/articles/01-03/ns\\_folk.html](http://naturalscience.com/ns/articles/01-03/ns_folk.html)



# AKTIVIT

TERMÉKAJÁNLAT:



## BIOANALITIKAI TERMÉKEK:

### Készletek nukleinsav-tisztításhoz

**NUCLEOBOND®** oszlopok és készletek  
anioncserélő technika alkalmazásával

**Nucleotrap®** és **Nucleotrap®CR** kiték DNS tisztításhoz  
szilikagól mátrix technika alkalmazásával

**NucleoSpin®** termékcsalád nukleinsav-tisztításhoz  
szilikagól membrántechnika alkalmazásával

- NucleoSpin® Plus
- NucleoSpin® Multi 8 Plasmid és Multi 8 Plus Plasmid
- NucleoSpin® Extract
- NucleoSpin® Blood és Blood L
- NucleoSpin® Multi 8 Extract
- NucleoSpin® C + T
- NucleoSpin® Plant
- NucleoSpin® RNS
- NucleoSpin® Virus és Virus L

### Speciális HPLC kolonnák bioszeparációhoz

- Ioncserélő kolonnák
- Fordított fázisú kolonnák
- Gél töltésű kolonnák

### Transzfer közegek és szűrő rendszerek

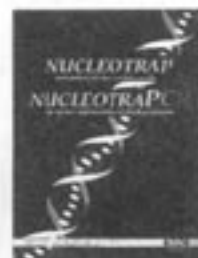
- CHROMAFIL® membránszűrők
- porablot® transzfer membránok
- Blotting papírok
- BIO-LAB-TOP

### Mikrobiológiai gyorsesztek

- BioFix® tesztcsíkok mikrobiológiai vizsgálatokhoz
- Mikrobiológiai gyorsesztek higiénias vizsgálatokhoz

## ALTALÁNOS LABORATORIUMI ESZKÖZÖK ÉS GÉPEK:

analitikai és gyorsmérlegek, súlysorozatok, ♦ pH papírok, tesztpapírok, ♦ pH és vezk. mérő műszerek, ♦ szűrőpapírok, membránszűrők, extrakciós hüvelyek, ♦ kémcsőkeverők, rázógépek, víz- és olajfürdők, termosztátok, ♦ malmok, ultrahangos keverők, labor reaktorok ♦ Mágneses és pálcás keverők, ♦ diszpergálók és homogenizálók, labor szivattyúk, roncsolók, desztillálók



## SZERVES KÉMIAI ANALITIKA:

♦ HPLC oszlopok, cartridge rendszerrel is, GC kapillárisok, polimer kolonnák ♦ TLC hordozók, szorbensek és kész VRK-lapok Al, műanyag és üveg hordozón ♦ C-H-H-O-S és összes N automata elemösszetétel analízátorok ♦ BIO-ANALITIKAI TERMÉKEK széles VÁLASZTÉKA

**AKTIVIT Kft.** 1145 Budapest, Pétervárad u. 14.  
Tel.: 47-00-125, 221-7865, 221-7866

FAX:  
252-9940

Gyártók: AUTOMESS GmbH., BEHR GmbH., ELEMENTAR GmbH.,  
GRÖGER & OBST GmbH., HYDROLAB Co., IKA WERKE GmbH.,  
KERN GmbH., MACHEREY-NAGEL GmbH., SKALAR BV., WTW GmbH.

## A peptidbiokémiai szakosztály hírei

Számos, a magyar biokémiai szakmai élettel kapcsolatos hírről számolt be a *European Peptide Society Newsletter* 26. száma. Az idei év áprilisában (25–27) a Cseh Tudományos Akadémia Szerves Kémiai és Biokémiai Intézete nyújtott helyet a „*Biológiailag Aktív Peptidek VII*” (BAP-7) konferenciának. Bár a

poszter szerepelt, s a szervezők a rendezvényt sikeresnek találták nemcsak szakmai színvonal tekintetében, de annak alapján is, hogy nagyszámú fiatal kutató volt a résztvevők között. Ennek alapján örömmel néznek a 2003 áprilisában sorra kerülő, következő konferencia elé is.



A BAP-7 konferencia résztvevői

nemzetközi rendezvényen többségükben cseh és szlovák kutatók vettek részt, számos külföldi szakember is jelen volt a meghívottak között. A konferencián plenáris előadást tartott Dr. M. Flegel (Polypeptide Laboratories, Prága) a peptidek termeléséről és az ezzel kapcsolatos kérdésekről, Prof. Hudecz Ferenc, az Európai Peptid Társaság (*European Peptide Society*) titkára, az epitóp peptidek immunfelismeréséről, Dr. A. Mucha (Wrocław University, Lengyelország) a leucin amidopeptidáz inhibitoraként ismert foszfonamidát és foszfinált dipeptidek szintéziséről, valamint Prof. A. Aubry (Nancy University, Franciaország) a biokémiai vizsgálatokban alkalmazható pszeudopeptidekről. A konferencia díszvendége volt a cseh peptidkutatás kiemelkedő alakja, a Desmopressin egyik felfedezője, a 75. születésnapját ünneplő Dr. Milan Zaoral. A rendezvényen mintegy 40 előadás és

Az *EPS Newsletter* idén adott hírt egy korábbi, hazai rendezvényről, a MTA Peptidkémiai Munkabizottságának 2001-es évi közgyűléséről, melynek a Richter Gedeon Vegyészeti Gyár Rt. balatonszemesi üdülője adott otthont, s ahol hazai fehérjekémikusok, biokémikusok, gyógyszerkutatók, orvosok és immunológusok 38 előadása hangzott el. A rendezvény kerekasztal-beszélgetés formájában foglalkozott a humán genom projekt sikerének a peptidkutatásra gyakorolt várható hatásával, s a konferencia résztvevői köszöntötték az akkor 70. születésnapját ünneplő Bajusz Sándor professzort, a MTA Peptidkémiai Munkabizottságának elnökét, akinek kiemelkedő munkásságát Prof. Medzihradsky Kálmán méltatta.

Az *EPS Newsletter* szintén beszámolt a *17th American Peptide Symposium (APS-17)* és *2nd International Peptide Symposium (IPS-2)* (San Diego, 2001. jún.



A MTA Peptidkémiai Munkabizottságának 2001. évi közgyűlésének résztvevői

9–14.) sikeréről, melynek alcíme „*Peptides: The Wave of the Future*” volt, s melyen az EPS számos tagja és tisztségviselője vett részt. A konferencia meghívott előadói között szerepelt Craig Venter, a humán genom szekvenálásának, Dennis Curran (*University of Pittsburgh*), a fluorkémia, Alan Schwabacher (*University of Wisconsin*), a Fourier-transzformációs kombinatorikus kémia, valamint Dieter Seebach (*ETH – Zurich*), a  $\beta$ -aminosavak oligomerjeivel kapcsolatos peptidkémia úttörő alakjai. A konferencia előadásainak összefoglalóit tartalmazó kötet a *Kluwer Academic Publishers* kiadásában jelent meg, nyomtatott és tematikusan kereshető elektronikus

(CD) alakban egyaránt. A rendezvényen elhangzott előadások és bemutított poszterek rövid összefoglalói a <http://www.5z.com/aps/abstractbook.html> internetcímen olvashatók.



Átvéve a European Peptide Society Newsletter 26. számából



EPS tisztségviselők az APS-17/IPS-2 konferencián. Balról jobbra: Prof. Ettore Benedetti, a 27th European Peptide Symposium elnöke, Prof. Raniero Rocchi, az EPS elnöke, Prof. Hélène Gras-Masse, az EPS Tudományos Ügyek Albizottságának elnöke, Prof. Hudecz Ferenc, az EPS titkára



## Dicsőséglista

*Kedves Tagtársak!*

Az Egyesület (és Szegedi Zsolt kollégánk) egy olyan szolgáltatására szeretnénk ismételt felhívni a figyelmet, amely bizonyára sokak érdeklődésére számot tart: 1997-től a

<http://www.webio.hu/pubex/cikk>

internetcímen folyamatosan megjelentetjük a „Current Contents Life Sciences”-ben jegyzett, 4-esnél nagyobb impaktú lapokban magyar kutatóhelyről publikált cikkek jegyzékét. Az ilyen cikkek száma a következőképp alakult az eltelt években: 1997: 147; 1998: 74; 1999: 79; 2000: 65; 2001: 121.

Az, hogy ilyen szép számban születnek ilyen, messze az átlagon felüli tudományos eredményeket közlő cikkek, önmagában igen öröndetes. Napjaink publikációs kényszer szülte cikkuhata-gában, úgy vélem, mindenképpen elfogadható, ha a kiemelkedő eredményekre koncentrálunk, ezek bemutatására azonban nincs jó módszer. (Igen méltánylandó, de sajnos „központilag” nem kezelhető próbálkozás néhány pályázati űrlap azon pontja, amikor a műveire kapott legjelentősebb hivatkozások *szöveges* bemutatására kérik a pályázót. Mindannyian tudjuk, mekkora különbségeket takarhat az „egyszerű” idézés egészen a „megcáfoltam a ... eredményeit”-től a „... korszakalkotó munkájára alapozva kísérleteinket”-ig.)

A 4-es impaktra alapozó szelekció már önmagában is minden bizonnyal vitát válthat ki. Abban bizonyára egyetértés mutatkozik, hogy nem az összesen megjelent, évi több mint ezer cikket kell felsorolni. Az impaktfaktor mint szelekciós tényező „többletpublicitáshoz” juttathatja bizonyos „divatosabb”, többlet idézett tudományterületek kutatóit. Azonban azt is figyelembe kell venni, hogy ezeken a területeken a verseny is nagyobb. A szelekcióba a *Current Contents* logikája szerint néhány kémiai folyóirat (pl. *J. Am. Chem. Soc.*) is bekerült. Ezeket a nem szorosan vett élettudományi cikkeket nem vettem ki a felsorolásból, mert úgy gondoltam, hogy egy magát biokémikusnak valló kutatónak nem árt tisztában lennie a kémiai tudományok hazai legfontosabb eredményeivel sem. A külföldön publikált eredmények szerepeltetése nem biztos, hogy indokolt, és technikailag is csak nagy nehézségek árán lenne megoldható.

Végezetül szeretnék elnézést kérni mindazoktól, akiknek hazai (tehát ahol a „*corresponding author*” levelezési címe magyarországi) munkái esetleg a *Current Contents*, illetve az én hibámból a felsorolásba nem kerültek be. Bármilyen javaslatot, illetve megjegyzést szinte korlátlan empátiával a [csermely@puskin.sote.hu](mailto:csermely@puskin.sote.hu) e-mail címen vagy a 1444 Bp., Pf. 260 levélcímen várok.

*Dr. Csermely Péter, főtítkár*



## ÁLLÁSHIRDETÉS

A Sigma-Aldrich Kft. értékesítési és marketingcsoportja munkatársat keres az alábbi feladatok ellátására:

- technikai szaktanácsadás
- E-kereskedelem
- tele marketing
- a cég dinamikus fejlődését biztosító feladatok

A munkakör magas szintű elvégzésére a pályázó

- szakirányú (biológus, biokémikus, vegyész) felsőfokú végzettséggel,
- angolnyelv-tudással,
- számítógépes ismerettel,
- kiváló kommunikációs készséggel rendelkezzen.

A pályázatokat „Csapat szellem” jeligére, az alábbi címre kérjük:

Sigma-Aldrich Kft.

1399 Bp., Pf. 701/400, [info@sigma.sial.hu](mailto:info@sigma.sial.hu)

**28th International Meeting  
of the Federation of European  
Biochemical Societies  
(FEBS)**

**Organized by the Israel  
Society for Biochemistry  
and Molecular Biology**  
*Istanbul, Turkey,  
October 20–25, 2002*



The 28th Meeting of the Federation of European Biochemical Societies will take place at the Hilton Istanbul Convention Center, Cumhuriyet Caddesi, 80200 Harbiye, Istanbul, Turkey • Tel: +90 212 315 6000 • Fax: +90 212 2320909 • <http://www.hilton.com>  
The official language of the Meeting is English. All abstracts should be submitted and presented in English. The deadline for submissions for 'Late-Breaking Science' abstracts is now September 15, 2002. This new abstract submission deadline will enable 'hot off the bench' science to be presented at the October meeting.

Participants requiring a formal letter of invitation to enable them to make their arrangements to participate in the Meeting may apply to the Secretariat. Please note that this letter can in no way be regarded as a commitment regarding scheduling or financial support from the Meeting organizers.

Further information is announced at the conference website <http://www.kenes.com/febs/index.html>



**ORGANIZING COMMITTEE**

I. Pecht (Chair), H. Soreq (Chair, Program Committee),  
U.Z. Littauer, N. Nelson, Y. Shiloh, Y. Eshdat (Treasurer)

**LOCAL SCIENTIFIC PROGRAM COMMITTEE**

Y. Birk, D. Cassel, G. Ehrlich, D. Haselkorn, Y. Henis, N. Isakov,  
O. Meyuhas, Y. Shoenfeld, B. Sredni, L. Vardimon, Y. Yarden

**MEETING SECRETARIAT FEBS 2002**

P O Box 50006 • Tel Aviv 61500, Israel  
Tel: +972-3-5140014 • Fax: +972-3-5140077 • E-mail: [2002febs@kenes.com](mailto:2002febs@kenes.com)

## ÁLLÁSHIRDETÉS

A MTA SZBK Enzimológiai Intézete Funkcionális genomikai kutatócsoportja  
(1113 Budapest, Karolina út 29., [patthy@enzim.hu](mailto:patthy@enzim.hu), Tel.: 279-3125)

**pályakezdő vagy néhány éves mikrobiológiai, biokémiai, molekuláris vagy sejtbiológiai  
laboratóriumi gyakorlattal rendelkező diplomás vegyészeket, biomérnököket, biológusokat**  
keres kutatómunkára. A felvétel alapfeltétele az angolnyelv-tudás.



# EPS-27



**SORRENTO - ITALY**

**August 31th - September 6th, 2002**

<http://www.27eps.unina.it/>



1119 Budapest Andor u. 47-49.  
Telefon: 463-5077  
Fax: 463-5261  
E-mail: [bio-sci@bio-science.hu](mailto:bio-sci@bio-science.hu)  
Internet: [www.bio-science.hu](http://www.bio-science.hu)

**A Thermo Labsystems fantasztikus fluoriméter ajánlata**

**2002.05.15 - 12.31.**

- 5210590CA02 Fluoroskan Ascent CF fluoriméter  
Ascent szoftverrel  
Ex 485 nm/Em 527 nm + Ex 544 nm/Em 590 nm szűrőkkel
- 5210480CA02 Fluoroskan Ascent fluoriméter  
1 diszpenzerrel, Ascent szoftverrel  
Ex 355 nm/Em 460 nm + Ex 485 nm/Em 538 nm szűrőkkel
- 5210460CA02 Fluoroskan Ascent FL fluoriméter  
1 diszpenzerrel, Ascent szoftverrel  
Ex 355 nm/Em 460 nm + Ex 485 nm/Em 538 nm szűrőkkel
- 5300170CA02 Luminoskan Ascent luminométer  
1 diszpenzerrel, Ascent szoftverrel



**AJÁNDÉK**  
ELISA reader  
Multiskan RC típus



Ascent szoftverrel  
405 nm, 450 nm és 620 nm  
szűrőkkel

készülékek vásárlása esetén

# Mikrobiológiai mintaelőkészítés

**Akció!**

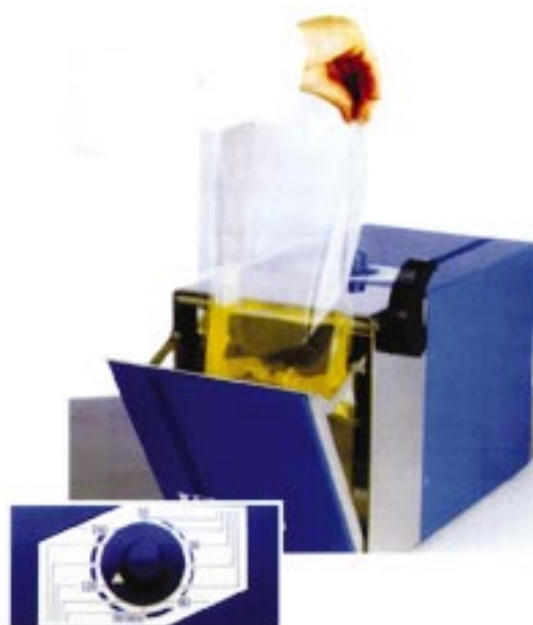
**20% engedmény,  
amíg a készlet tart!**

## **MIX 1**

**Szilárd minták aprítása,  
homogenizálása steril tasakokban**

- Állandó motor sebesség (240 rpm)
- Állítható homogenizálási idő
- Halk üzemű
- Biztonsági funkciók

**AES**  
*Laboratoire*



## **DILUMAT 4**

**Szilárd és folyékony minták  
automata higitása**

- Állítható higitási faktor és sebesség
- Automata adagoló kar
- 20 tárolható program
- Automatikus tárazás, kalibráció
- Riasztó funkció
- Alkalmazható BSE vizsgálathoz is




Képviselet és szervíz:

**NOVO-LAB**



1191 Budapest, Üllői út 200. Tel./Fax: 281-3692 Levélcím: 1680 Budapest, Pf.: 21. e-mail: info@novolab.hu



Announcing  
a quality  
multi-color  
real-time  
PCR instrument  
at a price  
you can't ignore.

Applied  
Biosystems  
Life Science Division

ABI PRISM<sup>®</sup> 7000  
Sequence Detection System

**AB Applied Biosystems**  
an Applied Biosystems Corporation Business

### Az élet tele van kellemes meglepetésekkel.

Úgy gondolja, hogy egy jó minőségű, multi-kolor, valós idejű PCR-nak feltétlenül drágának kell lennie? Gondolja át újra! Kevesebbet, mint amit elképzelhet, az új, helytakarékos kialakítású ABI Prism<sup>®</sup> 7000 Sequence Detection System egyedülálló teljesítményt nyújt. A kísérletek tervezési irányelvei, mint a Primer Express<sup>®</sup> szoftver, valamint a dedikált reagensrendszerek és fogyóeszközök garantálják az Ön sikerét. Szeretne többet tudni az ABI Prism<sup>®</sup> 7000 Sequence Detection Systemről? Látogasson el honlapunkra: [www.appliedbiosystems.com/7000](http://www.appliedbiosystems.com/7000)

Applied Biosystems  
1135 Budapest, Szegedi út 35-37.  
Tel.: 270-8398; Fax: 270-8288

Applied Biosystems is committed to providing the world's leading technology and solutions for life scientists. Applied Biosystems, Division of the Applied Biosystems and DNA Systems, is a leader in the PCR process as well as in the development of molecular biology, life, and environmental science. Applied Biosystems, ABI Prism and the Applied Biosystems and Primer Express are registered trademarks and Applied Biosystems and Applied Biosystems are trademarks of Applied Biosystems, a life science division of the life science division of Applied Biosystems, Inc. © 2001 Applied Biosystems. All rights reserved.