

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. 3. SZÁM

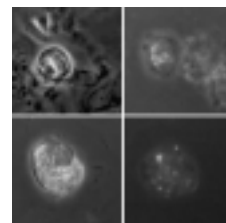
2002. SZEPTEMBER

A tartalomról:

- ◇ Caveolák: multifunkciós membrándomének – Kiss Anna, Turi Ágnes és Müllner Nándor
- ◇ A siderofortermelő képesség szerepe *Pseudomonas*-törzsek növénypatogén-antagonista hatásának biológiai vizsgálatában – Oldal Bálint, Jevcsák István és Kecskés Mihály
- ◇ Peptidek – 2002 – Kóczán György
- ◇ Fialat Biotechnológusok Nívódíja – Nyeste László

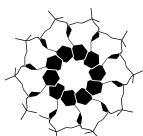
Címlapkép:

Caveolin-1 és caveolin-2 kimutatása rezidens és elicitált makrofágokban. Rezidens makrofágokban (felső képek) a caveolin-1 (bal) és caveolin-2 (jobb) izoformák citoplazmatikus előfordulása tapasztalható (az első ellenanyagot fluoreszcein-izotiocianáttal (FITC) jelölt második ellenanyaggal tettük láthatóvá, a felvételek konfokális lézermikroszkóppal készültek). Rezidens sejtekben mindkét izoforma a citoplazmában, a Golgi-készülék környezetében figyelhető meg. Elicitált makrofágokban (alsó képek) a caveolin-1 izoforma ellen termeltetett ellenanyaggal erőteljes jelölést kapunk mind a sejtfelszínen (bal), mind pedig a citoplazmában (jobb). Anti-caveolin-2 ellenanyaggal csupán gyenge citoplazmatikus jelölés detektálható (ld. a vonatkozó közleményt a 57–63. oldalakon).



Contents:

- ◇ Caveolae: multifunctional membrane domains – Anna Kiss, Ágnes Turi and Nándor Müllner
- ◇ The role of siderophore producing activity in the biological investigation of the antagonistic effect of *Pseudomonas* sp. strains against plant pathogens – Bálint Oldal, István Jevcsák and Mihály Kecskés
- ◇ Peptides – 2002 – György Kóczán
- ◇ Award for Young Biotechnologists – László Nyeste



MAGYAR
BIOKÉMIAI
EGYESÜLET

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

e-mail: biokemia@nki.hu <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**
a brand of 

Kérje katalógusainkat!

 **NEW ENGLAND
BioLabs**

 **Cell Signaling
TECHNOLOGY**

[a new company from New England Biolabs]

 **FINNZYMES**

M β 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: 339-8274, email: kvalitex@axelero.hu

Caveolák: multifunkciós membrándomének

I. Morfológiai és biokémiai jellemzés

Caveolae: multifunctional membrane domains I. Morphological and biochemical characteristics

L. Kiss Anna¹, Turi Ágnes² és Müllner Nándor²

Semmelweis Egyetem Általános Orvostudományi Kar
¹ Humánmorfológiai és Fejlődésbiológiai Intézet,
1094 Budapest, Tűzoltó u. 58., Tel.: 215-6920;

² Orvosi Vegytani, Molekuláris és Pathobiokémiai
Intézet, 1088 Budapest, Puskin u. 9., Tel.: 266-2755

Összefoglalás

A caveolák a plazmamembrán 50–100 nm átmérőjű palack, illetve omega alakú befűződése, amelyeknek citoplazmatikus felszínén hagyományos elektronmikroszkópos technikával burok nem látható. Ezen befűzések a plazmamembrán erősen hidrofób területei: membránjuk lipidekben gazdag, nagy mennyiségben tartalmaz koleszterint, sphingolipideket, valamint glikozil-foszfatidil-inozitol- (GPI)-kötött fehérjéket. A caveolák membránjának másik alapvető komponense egy 21–24 kD molekulatömegű fehérje, amelyet *caveolin*-nak neveztek el. A caveolák tehát olyan lipid *raft*oknak (tutajoknak) tekinthetők, amelyeknek membránjában caveolin van jelen. A membránban a caveolin beépülése eredményezi a jellegzetes palack-, illetve omega-forma megjelenését, a membrán görbülését.

Kiss, A. L.¹, Turi, A.² and Müllner, N.²

Semmelweis University Budapest,
¹ Department of Human Morphology and
Developmental Biology,

² Department of Medical Chemistry,
Molecular Biology and Pathobiochemistry

Summary

Caveolae are flask- or omega-shaped plasma membrane invaginations. Using conventional electron microscopical technique no clathrin coat can be identified on their cytoplasmic surface. These plasma membrane invaginations are highly hydrophobic membrane domains enriched in cholesterol, sphingolipids and GPI-anchored proteins. *Caveolin* – a 21–24 kD integral membrane protein – is the other principal component of caveolae membranes *in vivo*. According to their special lipid composition, caveolae are caveolin-containing lipid rafts present on the cell surface of living cells. It seems likely that caveolin insertion into flat lipid rafts could organize caveolae formation.

A caveolák morfológiai sajátosságai

A caveolák 50–100 nm átmérőjű, palack, illetve omega alakú, plazmamembrán-befűzések (1. ábra), amelyeket elsőként Palade [1] írt le endotél sejteken. Ezen „kis regek, üregecskék, amelyek az extracelluláris mátrixszal kommunikálnak” 1955-ben Yamada-tól kapták a „caveola” nevet [2]. Kutatásuk a kilencvenes években új lendületet kapott, amikor kiderült, hogy a clathrinburkos vezikulumok kialakulásának blokkolása nem állítja le az endocitotikus folyamatokat, és a caveolák mint alternatív endocitotikus compartimentumok kerültek az érdeklődés középpontjába. Morfológiai megjelenésük alapján feltételezhető, hogy a caveolák

dinamikus struktúrák. Hagományos elektronmikroszkópos felvételeken különböző mélységű (nyitott, sekély öblöcskék, zártabb, szűk nyakú palackra emlékeztető) befűzések formájában figyelhető meg. Egyesével vagy csoportosan, szőlőfürt-, illetve gyöngysorszerű elrendeződésben „lógnak” bele az intracelluláris térbe. Számos sejtben előfordulnak; fibroblasztokban [3], endotél sejtekben, simaizomsejtben [4], szívizomsejtben, harántcsíkolt izomsejtben, zsírsejtben [5–8], asztrocitákban, oligodendrogliában, mikrogliaiban [9]. Hosszú ideig vitatott volt, hogy az immunsejtek felszínén is jelen vannak-e caveolák. Eleinte az volt az elképzelés, hogy a mieloid eredetű sejtekre jellemzőek, a

limfoid eredetű sejtek membránjából azonban hiányoznak. A legújabb kísérleti adatok azonban azt mutatják, hogy valamennyi immunsejt felszínén is megfigyelhetők, megjelenésük és eloszlásuk azonban a sejtek aktivitásának/differenciálódásának függvénye [10].

1. ábra Caveolák fibroblasztok sejt felszínén. A palack, illetve omega alakú membránbefűződések (nyílfejek) nagy számban vannak jelen a fibroblasztok sejtmembránján. Néha csoportosan fordulnak elő (alsó ábra), meglehetősen bizarr megjelenési formát eredményezve. (A nyíl chlathrinburkos membránbefűződést jelöl.) Nagyítás: felső ábra: 50000x, alsó ábra: 20000x (lásd az 55. oldalon).

Hagyományos elektronmikroszkópos felvételeken ezen plazmamembrán-befűződések citoplazma felőli oldalán nem látható a chlathrinburkos vezikulumokra jellemző burok. Nagy felbontású pásztázó elektronmikroszkóppal, illetve fagyasztva-tört és mélymaratásos technika alkalmazásával [11] azonban bebizonyosodott, hogy a caveolák citoplazmatikus felszínén jellegzetes, felcsavarodott, spirális szerkezetű burok mutatható ki (2. ábra).

2. ábra A caveolák citoplazmatikus felszínén fagyasztva-tört mélymaratásos technikával jellegzetes, spirálisan feltekeredett burok figyelhető meg. A jobb felső sarokban a chlathrinburok jellegzetes képe látható (lásd az 55. oldalon).

A caveolák biokémiai jellemzése

Biokémiai vizsgálatok során kiderült, hogy a caveolák burkának legjellegzetesebb komponense egy ~21–24 kD molekulatömegű integráns membránfehérje, amelyet caveolinnak vagy vezikulum integráns fehérjének (VIP21) neveztek el [12,13].

Molekuláris biológiai vizsgálatok bizonyították, hogy a caveolin többféle változatban, a caveolin géncsalád termékeként fordul elő [7,8,14,15]. Klónozással három különböző caveolin gént azonosítottak, amelyek három különböző caveolin fehérjét kódolnak. A három különböző gén termékét caveolin-1, caveolin-2 és caveolin-3 fehérjéknek nevezték el. A caveolin-1 és caveolin-2 izoformáknak további két altípusa – α és β – ismert [16], amelyek alternatív iniciáció révén keletkeznek. Az izoformák molekulatömege (18–24 kD) aminosavsorrendje hasonló. Az egyes izoformák előfordulása jellegzetesen szövetspecifikus (3. ábra).

3. ábra (lásd a címlapon) Caveolin-1 és caveolin-2 kimutatása rezidens és elicitált makrofágokban. Rezidens makrofágokban (felső képek) a caveolin-1 (bal) és caveolin-2 (jobb) izoformák citoplazmatikus előfordulása tapasztalható (az első ellenanyagot fluoreszcein-izotiocianáttal (FITC) jelölt másodikkal ellenanyaggal tettük láthatóvá, a felvételek konfokális lézermikroszkóppal készültek). Rezidens sejtekben mindkét izoforma



L. Kiss Anna 1973-ban végzett az ELTE Természettudományi karának biológia-kémia szakán. 1977-től dolgozik a Semmelweis Orvostudományi Egyetemen, a Humánmorfológiai és Fejlődésbiológiai Intézetben (régebben II. Anatómia, Szövet-és Fejlődéstani Intézetében), jelenleg egyetemi docens. Anatómiát, szövet- és fejlődéstant oktat orvostanhallgatóknak magyar és angol nyelven. Az intézet angol és magyar tanulmányi felelőse. Kutatási témája az endocitózis folyamatának tanulmányozása peritoneális makrofágokon. Az utóbbi időben a caveolák tanulmányozása a fő érdeklődési területe.



Turi Ágnes az Eötvös Lóránd Tudományegyetem biológia-kémia szakán végzett 1974-ben. Azóta a Semmelweis Egyetemen az Orvosi Vegytani, Molekuláris Biokémiai és Pathobiokémiai Intézetben dolgozik, jelenleg mint tudományos főmunkatárs. Egyetemi doktori és kandidátusi disszertációi a miometriális Na/K-ATPáz szabályozásával kapcsolatos kutatásainak eredményeit foglalják össze. Amerikai tanulmányútja során az agyszöveti mikrotubulusok szerveződésének szabályozásával foglalkozott. Hazatérte után a terhesség egy fiziológiai folyamata során különböző ionpumpák, elsősorban a Na/K-ATPáz expressziójának változásait vizsgálta. Az ösztrogén és progeszteron hatásait tanulmányozva

kimutatta ezek hatását a caveolák kialakulására, illetve az ezért felelős fehérje, a caveolin expressziójára. Jelenleg a caveolin szerepét vizsgálja – főleg simaizom-szövetben – egyes jelátviteli folyamatokban.



Müllner Nándor az Eötvös Lóránd Tudományegyetem biológus szakának elvégzése óta, 1979-től a Semmelweis Egyetem Orvosi Vegytani, Molekuláris Biokémiai és Pathobiokémiai Intézetében dolgozik. 1980-tól oktat általános kémiát, illetve biokémiát orvostanhallgatóknak, jelenleg a másodéves hallgatók tanulmányi felelőse. Kétéves amerikai ösztöndíja idején detergens szolubilizált membránfehérjék, elsősorban a szarkoplazmatikus retikulum Ca-ATPáz stabilitását tanulmányozta. Elsőként sikerült ezt az iontranszport fehérjét kristályos formában előállítani. Ebből a témából írta meg kandidátusi disszertációját. Kutatási területe jelenleg a caveolin expresszióját befolyásoló tényezők vizsgálata.

a citoplazmában, a Golgi-készülék környezetében figyelhető meg. Elicitált makrofágokban (alsó képek) a caveolin-1 izoforma ellen termeltetett ellenanyaggal erőteljes jelölést kapunk mind a sejtfelszínen (bal), mind pedig a citoplazmában (jobb). Anti-caveolin-2 ellenanyaggal csupán gyenge citoplazmatikus jelölés detektálható.

A caveolin-1 izoforma jelenléte elengedhetetlenül szükséges a caveolák kialakulásához [17], a caveolin-1 expressziója eredményezi a jellegzetes burok kialakulását is [17,18]. Úgy tűnik azonban, hogy a caveolák kialakulásához a caveolin-1 mellett a caveolin-2 fehérjének is jelen kell lennie. Mindazonáltal a caveolin-2 a burok kialakításában csak mint „járulékos” fehérje szolgál, önmagában nem elegendő a sejtfelszíni caveolák létrehozásához [19].

Valamennyi caveolin izoformára jellemző (4. ábra), hogy van egy 32–33 aminosavból álló, erősen hidrofób, centrális szakasza (a 102–134 pozícióban), amely a membrán foszfolipid kettősrétegében helyezkedik el, és a caveolin membránhoz való kötéséért felelős. Az utóbbi évek kutatásai bizonyították, hogy a caveolin igen jellegzetes módon, hajtűszerűen helyezkedik el a membránban, azaz mind a C-, mind pedig az N-terminális vége a citoplazma felé néz [20,21]. Az N-terminális vég (27–75 aminosav) amfipatikus tulajdonsága révén kapcsolódik a membrán belső felszínéhez, a C-terminális domén (132–154) két cisztein származékához zsírsav – általában plamitinsav – kötődik, amely ezt a domént is a plazmamembránhoz rögzíti [22]. Ezen hajtűszerű elhelyezkedés (5. ábra) következtében lehetőség van arra, hogy caveolin izoformák egymással összekapcsolódjanak, dimereket, illetve oligomereket hozzanak létre. Az egyes izoformák egymástól az N-terminális részek hosszában különböznek (a caveolin-1 N-terminálisa hosszabb, mint a caveolin-2 és caveolin-3 fehérjéké). A caveolin-2 izoforma *scaffolding* doménje pedig hiányzik [23].

4. ábra A caveolin-1 izoforma szerkezete és funkciók csoportjai (lásd a színes ábrát az 55. oldalon).

5. ábra A caveolin izoformák hajtűszerűen épülnek be a foszfolipid kettősrétegbe: C- és N-terminális doménjük is a citoplazma felé néz (lásd a színes ábrát az 55. oldalon).

A caveolák másik jellegzetes, állandó komponense a koleszterin [24,25]. Már az első morfológiai meg-

figyelések után nyilvánvalóvá vált, hogy a koleszterin fontos szerepet játszik a caveolák integritásának fenntartásában: koleszterinkötő ágensekkel (filipin) való kezelés után ugyanis a caveolák burka szétesik, dezintegrálódik [11]. Biokémiai vizsgálatokkal igazolták, hogy a koleszterin erősen kötődik a caveolin-1-hez, azaz a koleszterin stabilizálja a caveolin-1 oligomereket [26]. A koleszterin és a caveolin-1 együttműködik a burok kialakításában. A koleszterin mellett számos más lipid (szfingolipidek, glikozilszfingolipidek, szfingomielin, glikolipidek, glikofoszfolipidek) akkumulálódik a caveolák membránjában [7,8,14,15,27]. A caveolák magas koleszterin- és szfingolipidtartalmuk következtében merev, rigid membránterületek, jellegzetes lipidösszetételük alapján a plazmamembránban megfigyelhető más, erősen hidrofób membrándoménekhez, az ún. lipid raftokhoz sorolhatók. Ezen lipid raftok nagy rendezettségű, de kis fluiditású membránterületek, amelyek elkülönülnek a szomszédos rendezetlenebb membránterületektől, külön fázist alkotnak a membránban, mint a vízen úszó tutajok vagy jégtáblák [27,28]. A caveola-kutatások során meglehetősen hamar nyilvánvalóvá vált az is, hogy a caveolákhoz kapcsolódó koleszterin kioldása a glikozil-foszfatidilinozitolhoz kötött (*GPI-linked*) fehérjék diffúz eloszlását eredményezi, erősen hidrofóbbá, detergensekben oldhatatlanná téve ezen membrándoménket [29–31].

Az elmúlt 10 év alatt, a caveolák intenzív biokémiai vizsgálata során számos biológiailag fontos molekulát (lipideket, módosított fehérjéket, membránreceptorokat, jelátviteli molekulákat, transzportereket stb.) azonosítottak a caveolákban [24]. Bizonyítékok támasztják alá, hogy a caveolin maga közvetlenül „felelős” azért, hogy a caveolákban előforduló fehérjék a membrán caveola-mikrodoménjeibe szekvesztrálódjanak. Számos fehérjéről vált ismertté, hogy kölcsönhatásba lépnek a caveolák kulcsfontosságú összetevőjével, a caveolin-1 fehérjéjével. A caveolin-1 N-terminális doménjének 41 aminosavból (61–101) álló, citoplazma felé néző, de membránközeli része fontos szerepet játszik a kötődésben [16]. Ebben a régióban elvégzett aminosavmódosítások, illetve -cserék hatékonyan gátolják pl. a heterotrimer G α -alegység, H-Ras, eNOS, Src kinázok caveolin-1-hez való kötődését. A caveolin ezen kb. 40 aminosavból álló, membránhoz közeli részét *caveolin-scaffolding doménnek* nevezzük. A

caveolin-*scaffolding* domén a caveolinhoz kötődő molekulák közös, caveolinkötő szekvenciamotívumát ismeri fel. A caveolinkötő doménben az aminosavak jelenléte és helyzete meghatározó szerepet játszik a caveolinhoz való kötődésben [32]. A caveolinkötő szekvencia a legtöbb caveolinhoz kötődő enzimfehérjék katalitikus centrumához közeli régióban található, a caveolinhoz való kötődés tehát allosztérikusan gátolhatja az adott fehérje aktivitását. A caveolin-*scaffolding* domén kölcsönhatása a caveolinkötő doménnel a receptor-ligandum kölcsönhatáshoz hasonlóan működhet.

Összefoglalva elmondhatjuk, hogy a caveolák különleges összetételű, erősen hidrofób, caveolintartalmú, detergensekben oldhatatlan plazmamembrán domének, amelyeknek lipid- és fehérjeösszetétele jelentősen eltér a környező membrándomének összetételétől. A caveolin mellett különösen nagy mennyiségben tartalmaznak koleszterint, szfingomielint, glikolipideket és glikoszfingolipideket. A caveolákban kimutatható fehérjék a caveolinhoz való specifikus kölcsönhatás, kötődés eredményeként akumulálódnak a caveolákban.

A caveolák keletkezése

A caveolák kialakulása többlépcsős folyamat, amely magában foglalja a caveolin izoformák bioszintézisét, a caveolin-koleszterin-foszfolipid komplexek kialakulását, ezen komplexek membránba történő beépülését. A caveolin a durva felszíni endoplazmatikus retikulum riboszómáin (dER) szintetizálódik, vízben oldódó, monomer formában, majd a dER-ből a Golgi-készülékbe transzportálódik. Miközben a caveolin a Golgi-készülék, majd pedig a sejt felszín felé vándorol, mérete és oldhatósági állapota is változik. A bioszintézist követően viszonylag gyorsan (még a durva felszíni endoplazmatikus retikulumban) megindul az oligomerizáció: eleinte 200 kDa tömegű oligomerek keletkeznek, majd 1 órával a bioszintézis megindulása után az oligomerek elérik a 400–600 kDa méretet. Az oligomerizációban és a további érési folyamatokban a caveolin C-terminális vége játszik fontos szerepet. Ide kötődnek az oligomerek stabilitását biztosító palmitoilláncok is. Útban a Golgi-készülék, illetve a transz-Golgi-hálózat (TGN) felé, a komplexhez fokozatosan koleszterin kötődik. A Golgi-készülékben a komplexhez szfingolipidek, szfingomielinek kapcsolódnak, amelyek eredmé-

nyeként hidrofób domének (*raftok*) keletkeznek [33]. A fenti lipidek beépülése eredményezi ezen membránterületek oldhatósági viszonyainak megváltozását, ily módon caveolin-*raftok* detergensekben oldhatatlanná válnak. Ezen caveolaszerű domének a sejt felszínre vándorolva caveolákat hoznak létre, miközben a caveolák lipidmagja megmarad, nem oszlik szét a környező lipidrétegben. A caveolák tehát a sejt felszínen koherens foltként maradnak meg, a lipid kettősrétegbe merülnek, mint a jéghegyek a tengerbe. Az elmondottakból jól látható, hogy a caveolák genezise már a citoplazmában megkezdődik, preformált, citoplazmában (a Golgi-készülékben) „elkészített” caveolaszerű doménekből, „caveola-prekurzorokból” keletkeznek, ellentétben a clathrinburkos vezikulumokkal, amelyek *de novo*, a sejtmembránon alakulnak ki [8,17,19,21,26,34–36].

A caveolák fennmaradásában kulcsfontosságú szerepe van a koleszterinnek. Ha a sejt koleszterinszintje lecsökken, a caveolák burka dezintegrálódik a caveolák eltűnnek a sejt felszínről (*lásd korábban*).

A caveolák lefűződése, internalizációja

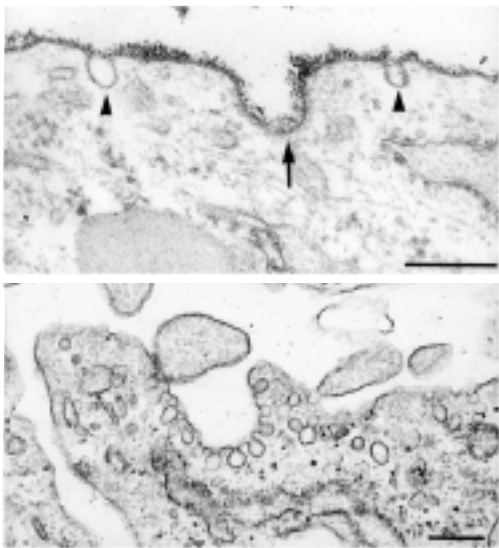
A caveolák változó görbületű megjelenése azt sugallja, hogy a caveolák lefűződhetnek a sejt felszínről. Ennek ellenére sokáig tartotta magát az az elképzelés, hogy a caveolák a sejt felszín stabil, permanens struktúrái, speciális összetételű mikrodoménjei. Morfológiai vizsgálatok eredményei azonban egyértelműen bizonyították, hogy a caveolák a sejt felszínről lefűződő struktúrák. A caveolák lefűződése, internalizációja szigorúan szabályozott folyamat, amelyben kinázok és foszfatázok összehangolt működése döntő szerepet játszik. Úgy tűnik, hogy a foszforiláltság növekedésével az internalizáció stimulálható, míg a foszforiláltság csökkenése az internalizáció csökkenését, illetve gátlását eredményezi [37,38].

A folyamatot az aktin citoszkeleton állapota modulálhatja, a citoszkeleton szerveződése pedig szintén szigorúan szabályozott folyamat. Az utóbbi időben ismertté vált, hogy az F-actin polimerizációjában szerepet játszó *filamin* a caveolin-1 N-terminális doménjéhez kötődik, ily módon a citoszkeleton az aktin polimerizációjában fontos szerepet játszó filamin révén szabályozhatja a caveolák internalizációját [39].

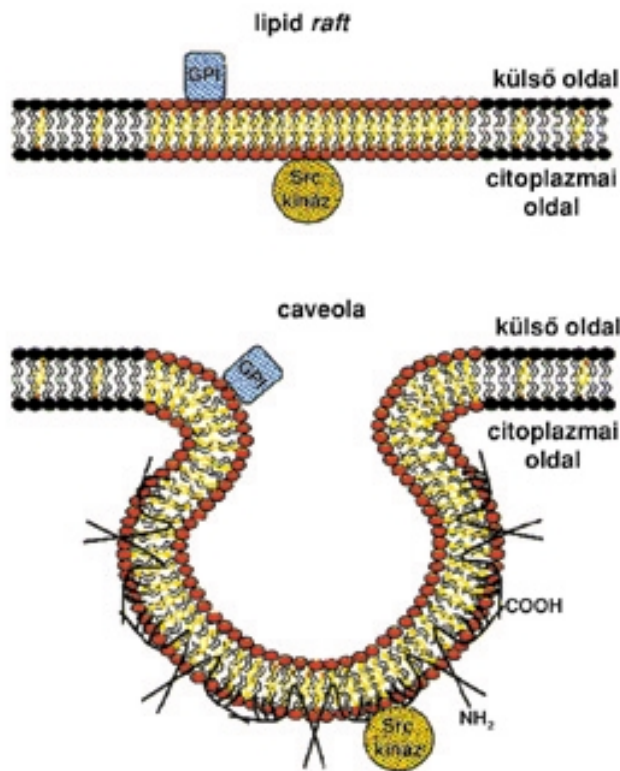
Az utóbbi időben vált ismertté, hogy a caveolák membránról való leszakadásának, lefűződésének molekuláris mechanizmusában a *dinamin* [40,41] fontos szerepet játszik. A dinamin a nagy (100 kD) GTP-áz család tagja, kulcsfontosságú szerepet játszik a chlathrinburkos vezikulumok lefűződésében is. Ez a citoszólban jelen lévő GTP-áz GDP-kötött formában kötődik a caveolák keskeny, nyaki szakaszához, majd oligomereket hozva létre „gallért” képez a caveolák nyakán. A lefűződés akkor jön létre, amikor a dinamin ebben az oligomer gallérban aktiválódik, GTP-kötő- és -hidrolizáló képessége nő. Egy kritikus szint elérése után a dinaminokhoz kötött GTP hidrolizál, elegendő energiát szolgáltatva a nyaki rész összehúzódásához; a dinamin-oligomer konformációja megváltozik, a szűk nyaki rész egymáshoz közeli membránjai még közelebb kerülnek egymáshoz, a membránfúzió létrejön, és a caveola lefűződik.

Irodalomjegyzék

- [1] Palade, G. E. (1953) Fine structure of blood capillaries. *J. Appl. Phys.*, **24**: 1424.
- [2] Yamada, E. (1955) The fine structure of gall bladder epithelium of the mouse. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **1**: 445–458.
- [3] Röhlich, P., Allison, A. C. (1976) Oriented pattern of membrane-associated vesicles in fibroblasts. *J. Ultrastruct. Res.*, **57**: 94–103.
- [4] Forbes, M. S., Rennels, M. L., Nelson, E. (1979) Caveolar system and sarcoplasmic reticulum in coronary smooth muscle. *J. Ultrastruct. Res.*, **67**: 325–339.
- [5] Fan, J. Y. (1983) Morphological changes of the 3T3-L1 fibroblast plasma membrane upon differentiation to adipocyte form. *J. Cell Sci.*, **6**: 219–230.
- [6] Scherer, P. E., Lisanti, M. P., Baldini, G., Sargiacomo, M., Coley-Mastick, C., Lodish, H. F. (1994) Induction of caveolin during adipogenesis and association of GLUT4 with caveolin-rich vesicles. *J. Cell Biol.*, **127**: 1233–1243.
- [7] Scherer, P. E., Okamoto, T., Chun, M., Nishimoto, J., Lodish, H. F., Lisanti, M. P. (1996) Identification, sequence and expression of caveolin-2 defines a caveolin gene family. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **93**: 131–135.
- [8] Scherer, P. E., Tang, Z.-L., Chun, M. C., Sargiacomo, M., Lodish, H. F., Lisanti, M. P. (1995) Caveolin isoforms differ in their N-terminal protein sequence and subcellular distribution: identification and epitope mapping of an isoform-specific monoclonal antibody probe. *J. Biol. Chem.*, **270**: 16395–16400.
- [9] Nishiyama, K., Trapp, B. D., Ikezu, T., Ransohoff, R. M., Tomita, T., Iwatsubo, T., Kanazawa, I., Hsiao, K. K., Lisanti, P., Okamoto, T. (1999) Caveolin-3 upregulation activates b-secretase-mediated cleavage of the amyloid precursor protein in Alzheimer's disease. *J. Neurosci.*, **19**: 6538–6548.
- [10] Harris, J., Werling, D., Hope, J., Taylor, G., Howard, C. J. (2002) Caveolae and caveolin in immune cells: distribution and function. *Trends Immunol.*, **23**: 158–164.
- [11] Steer, C. J., Heuser, J. (1991) Chlathrin and coated vesicles: critical determinants of intracellular trafficking. In: *Intracellular Trafficking of Proteins* (Steer, C. J., Hanover, J., Eds.) (Cambridge University Press, London) pp. 47–102.
- [12] Kurchalia, T., Dupree, P., Parton, R. G., Kellner, R., Virta, H., Lahnert, M., Simons, K. (1992) VIP21, a 21 kDa membrane protein is an integral component of trans-Golgi network-derived transport vesicles. *J. Cell Biol.*, **118**: 1003–1014.
- [13] Rothberg, G., Heuser, J. E., Donzell, W. C., Ing, Y.-S., Glenney, J. R., Anderson, R. G. W. (1992) Caveolin, a protein component of caveolae membrane coat. *Cell*, **68**: 673–682.
- [14] Glenney, J. R., Soppet, D. (1992) Sequence and expression of caveolin, a protein component of caveolae plasma membrane domains phosphorylated on tyrosine in Rous-transformed fibroblasts. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **89**: 10517–10521.
- [15] Tang, Z.-L., Scherer, P. E., Lisanti, M. P. (1994) The primary sequence of murine caveolin reveals a conserved consensus site for phosphorylation by protein kinase C. *Gene*, **147**: 299–300.
- [16] Song, K. S., Tang, Z., Li, S., Lisanti, M. P. (1997) Mutational analysis of the properties of caveolin-1. *J. Biol. Chem.*, **272**: 4398–4403.
- [17] Fra, A. M., Williamson, E., Simons, K., Parton, R. G. (1995) De novo formation of caveolae in lymphocytes by expression of VIP21-caveolin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **92**: 8655–8659.
- [18] Li, S., Song, K. S., Koh, S. S., Kihuchi, A., Lisanti, M. P. (1996) Baculovirus-based expression of mammalian caveolin in Sf 21 insect cells. *J. Biol. Chem.*, **271**: 28647–28654.
- [19] Okamoto, T., Schlegel, A., Scherer, P., Lisanti, M. P. (1998) Caveolins, a family of scaffolding proteins for organizing “pre-assembled signaling complexes” at the plasma membrane. *J. Biol. Chem.*, **273**: 5419–5422.
- [20] Dupree, P., Parton, R. G., Raposo, G., Kurchalia, T. V., Simons, K. (1993) Caveolae and sorting in the trans-Golgi network of epithelial cells. *EMBO J.*, **12**: 1597–1605.
- [21] Monier, S., Parton, R. G., Vogel, F., Behlke, J., Henske, A., Kurchalia, T. V. (1995) VIP21-caveolin a membrane protein constituent of the caveolar coat, oligomerizes *in vivo* and *in vitro*. *Mol. Biol. Cell*, **6**: 911–927.
- [22] Dietzen, D. J., Hastings, W. R., Lublin, D. M. (1995) Caveolin is palmitoylated on multiple cysteine residues: palmitoylation is not necessary for localization of caveolin to caveolae. *J. Biol. Chem.*, **270**: 6838–6842.
- [23] Van Meer, G. (2001) Caveolin, cholesterol and lipid droplets? *J. Cell Biol.*, **152**: 29–34.
- [24] Anderson, R. G. W. (1998) The caveolae membrane system. *Ann. Rev. Biochem.*, **67**: 199–225.
- [25] Smart, E. J., Graf, G. A., McNiven, M. A., Sessa, W. C., Engelman, J. A., Scherer, P. E., Okamoto, T., Lisanti, M. P. (1999) Caveolins, liquid-ordered domains and signal transduction. *Mol. Cell Biol.*, **19**: 7289–7304.
- [26] Murata, M., Peranen, J., Schreiner, R., Wieland, F., Kurchalia, T. V., Simons, K. (1995) VIP21/caveolin is a cholesterol-binding protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **92**: 10339–10343.
- [27] Pralle, A., Keller, P., Florin, E. L., Simons, K., Horber, J. K. (2000) Sphingolipid-cholesterol rafts diffuse as small entities in the plasma membrane of mammalian cells. *J. Cell Biol.*, **148**: 997–1008.
- [28] Friedrichson, T., Kurchalia, T. V. (1998) Microdomains of GPI-anchored proteins in living cells revealed by crosslinking. *Nature*, **394**: 802–805.
- [29] Stahl, A., Mueller, B. M. (1995) The urokinase-type plasminogen activator, a GPI-linked protein is localized in caveolae. *J. Cell Biol.*, **129**: 335–344.
- [30] Rothberg, K. G., Ying, Y.-S., Kamen, B. A., Anderson, R. G. W. (1990) Cholesterol controls the clustering of the glycosylphospholipid-anchored membrane receptor for 5-methyltetrahydrofolate. *J. Cell Biol.*, **111**: 2931–2938.
- [31] Schenoy-Scaria, A. M., Dietzen, D. F., Kwong, J., Link, D. C., Lublin, D. M. (1994) Cysteine3 of Src family protein tyrosine kinases determines palmitoylation and localization in caveolae. *J. Cell Biol.*, **126**: 353–363.
- [32] Lisanti, M. P., Sargiacomo, M., Graeve, L., Saltiel, A., Rodriguez-Boulan, E. (1988) Polarized apical distribution of glycosylphosphatidyl inositol anchored proteins in a renal epithelial line. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **85**: 9557–9561.
- [33] Sargiacomo, M., Scherer, P. E., Tang, Z.-L., Kubler, E., Song, K. S., Sanders, K. C., Lisanti, M. P. (1995) Oligomeric structure of caveolin: Implications for caveolae membrane organization. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **92**: 9407–9411.
- [34] Ikonen, E., Tagaya, M., Ullrich, O., Montecucco, C., Simons, K. (1995) Different requirements for NSF, SNAP and Rab proteins in apical and basolateral transport in MDCK cells. *Cell*, **81**: 571–580.
- [35] Parton, R. G., Simons, K. (1995) Digging into caveolae. *Science*, **269**: 2–3.
- [36] Paste, G., Allison, A. C. (1973) Membrane fusion. *Biochim. Biophys. Acta*, **300**: 421–467.
- [37] Smart, E. J., Yun-shu Y., Anderson, R. G. W. (1995) Hormonal regulation of caveolae internalization. *J. Cell Biol.*, **131**: 929–938.
- [38] Parton, R. G., Joggert, B., Simons, K. (1994) Regulated internalization of caveolae. *J. Cell Biol.*, **127**: 1199–1215.
- [39] Stahlhust, M., van Deurs, B. (2000) Identification of filamin as a novel ligand for caveolin-1: evidence for the organization of caveolin-1-associated membrane domains by the actin cytoskeleton. *J. Cell Biol.*, **11**: 325–337.
- [40] Henley, J. R., Koneger, E. W. A., Oswald, B. J., McNiven, M. A. (1998) Dynamin-mediated internalization of caveolae. *J. Cell Biol.*, **141**: 85–99.
- [41] Oh, P., McIntosh, D. P., Schnitzer, J. E. (1998) Dynamin at the neck of caveolae mediates their budding to form transport vesicles by GTP-driven fission from the plasma membrane. *J. Cell Biol.*, **141**: 101–114.



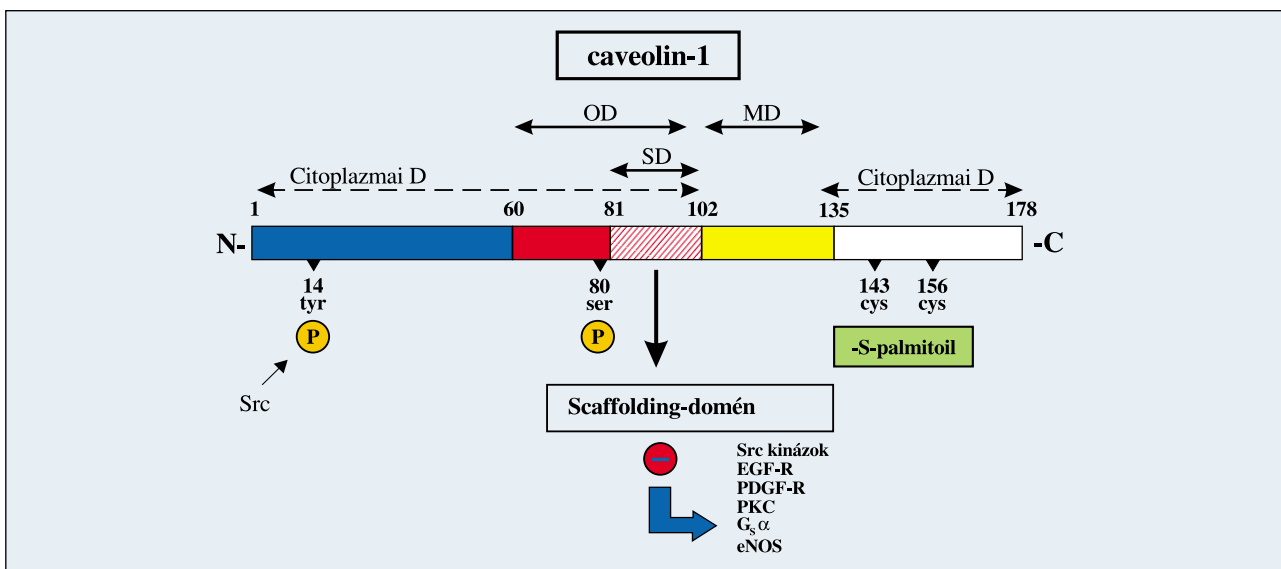
1. ábra Caveolák fibroblasztok sejtfelszínén. A palack, illetve omega alakú membránbefűződések (nyílfejek) nagy számban vannak jelen a fibroblasztok sejtmembránján. Néha csoportosan fordulnak elő (alsó ábra), meglehetősen bizarr megjelenési formát eredményezve. (A nyíl chlathrinburkos membránbefűződést jelöl.) Nagytítás: felső ábra: 50000x, alsó ábra: 20000x



5. ábra A caveolin izoformák hajtúszerűen épülnek be a foszfolipid kettszrétegbe: C- és N-terminális doménjük is a citoplazma felé néz.



2. ábra (balra) A caveolák citoplazmatikus felszínén fagyasztva-tört mélymaratásos technikával jellegzetes, spirálisan feltekeredett burok figyelhető meg. A jobb felső sarokban a chlathrinburok jellegzetes képe látható.



4. ábra A caveolin-1 izoforma szerkezete és funkciós csoportjai

Precision Respirometry



- All recording and analysis in software
- For mitochondria, cell suspensions and other respiring preparations
- Sample volumes 50 μ l to 3 ml
- Microcathode oxygen electrodes



Strathkelvin Instruments

www.strathkelvin.com

A sziderofortermelő képesség szerepe *Pseudomonas*-törzsek növénypatogén-antagonista hatásának biológiai vizsgálatában

The role of siderophore producing activity in the biological investigation of the antagonistic effect of *Pseudomonas* sp. strains against plant pathogens

Oldal Bálint¹, Jevcsák István², Kecskés Mihály²

¹ MTA Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézete, 1022 Budapest, Herman O. út 15.

² Szent István Egyetem, Környezetvédelmi Mikrobiológiai Kutatócsoport, 2103 Gödöllő, Páter K. u. 1.

Összefoglalás

13 *Pseudomonas aeruginosa* és 13 egyéb *Pseudomonas* reprezentáns törzs gátló hatását tanulmányoztuk *Rhizoctonia solani* és *Fusarium solani* növénypatogén mikroszkopikus gombákkal szemben. Előzetes biotesttel kimutattuk a törzsek sziderofortermelését, mely tulajdonság fontos szerepet játszik antagonista képességükben. A gombák telepnövekedésének gátlását két *in vitro* módszerrel, ugyanazon tápközeg használata mellett teszteltük. A lemezöntéses eljárásnál az antagonista baktériumok szignifikánsan nagyobb mértékben gátolták a patogének szaporodását, mint a pontoltás esetében. A vizsgált 26 *Pseudomonas*-törzs közül a *P. aeruginosa* törzsek általánosan hatékonyak bizonyultak a patogén gombákkal szemben. A *Rhizoctonia solani* gomba növekedését a vizsgált baktériumtörzsek mindig nagyobb mértékben gátolták, mint a *Fusarium solani*-ét. A biológiai növényvédelemben felhasználható *Pseudomonas* baktériumok laboratóriumi (*in vitro*) törzsszelekciójának lehetőségét az alkalmazott módszerek fényében tárgyaljuk.

Bevezetés

Az integrált növényvédelemben a biológiai védekezés (*Integrated Pest Management, Biological Control*) lényege a patogén (mikro)organizmusok inokulummennyiségének vagy megbetegítőképességének csökkentése más (mikro)organizmusok segítségével a gazdanövényt is beleértve, az ember

Oldal, B.¹, Jevcsák, I.² and Kecskés, M.²

¹ Research Institute for Soil Science and Agricultural Chemistry, Hungarian Academy of Sciences, H-1022 Budapest, Herman O. út 15., Hungary

² Szent István University, Environmental Microbiological Research Group, H-2103 Gödöllő, Páter K. u. 1., Hungary

Summary

The antagonistic effect of thirteen *Pseudomonas aeruginosa* and thirteen other *Pseudomonas* strains was studied on the soil-borne phytopathogenic *Rhizoctonia solani* and *Fusarium solani* fungi. The bacterial strains were pre-selected for siderophore production (an important property involved in their antagonistic ability) with a simple biological test method. The inhibition of pathogen colony growth was tested with two *in vitro* techniques using the same type of culture media. In case of spread slant technique the antagonists induced significantly stronger inhibition on the growth of the pathogens than in case of spot transfer. *P. aeruginosa* strains were generally effective against the fungal pathogens. *R. solani* proved to be affected to a greater extent by the bacterial strains studied than the *F. solani* representative. The possibility of *in vitro* strain selection of bio-control microbes is being further discussed.

aktív közreműködése nélkül [1]. A talaj eredetű növényi betegségek biológiai kontrolljának módszereit már több mint 60 éve tanulmányozzák az egész világon [2], ennek ellenére a betegségek kereskedelemben is kapható preparátumokkal történő visszaszorítására csak az utóbbi egy-két évtizedben történtek próbálkozások.

A mikroorganizmusok között sok genusban (pl. *Actinoplanes*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Arhtrobacter*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Cellulomonas*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Micromonospora*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Streptomyces* stb.) megtalálhatók biokontroll céljára felhasználható fajok [3,4]. Bizonyították, hogy a fluoreszcens *Pseudomonas*-fajok természetes gátlóanyagokat termelnek bizonyos talajokban a *Fusarium oxysporum* ellen a len, a retek, és az uborka [5], *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* ellen a búza [6], valamint *Thielaviopsis basicola* ellen a dohány esetében [7]. A fluoreszcens *Pseudomonas*-fajokra mint biológiai kontroll ágensekre irányuló figyelem összefügg e rizobaktériumok egyéb jellemvonásaival, minthogy a rizoszféra biomasszájának többségét ezek adják [8,9], valamint antimikrobiális aktivitással rendelkező másodlagos anyagcseretermékek széles skáláját termelik [10].

Vaskompetíció szideroforok segítségével

A vas központi szerepet játszik az obligát és fakultatív aerob mikroszervezetek anyagcseréjében, ennek ellenére nagyon kis mennyiségben van jelen a környezetben. Kis hozzáférhetősége a talajban főként a ferri-oxi-hidroxi-polimerek alacsony oldhatóságának következménye. A jól oxidált talajokban a vas oldhatósága a $\text{Fe}(\text{OH})_3$ -tól függ elsősorban

[11]. E vegyületek oldhatósági együtthatója nagyon alacsony ($K_{\text{old}} = 10^{-38}$), ennek eredményeképp pH 7 értéknél a Fe^{3+} koncentrációja 10^{-17} M, holott a minimális koncentráció, amely a normális növekedést még lehetővé teszi 10^{-6} M [12]. Ez okból a vas az egyik döntő faktor, mely meghatározza az adott élőhely mikrobaközösségét. Az ilyen közegekben leginkább azok a fajok tudnak létezni, illetve „érvényesülni”, amelyek jól kiépített és nagy hatásfokkal működő vasszerzési mechanizmust működtetnek. A mikroorganizmusok három alapvető módszerrel vihetik oldatba az oldhatatlan $\text{Fe}(\text{III})$ -oxidokat: protonációval, redukcióval és kelátképzéssel. A protonáció az egyensúlyi állandó eltolásával a $\text{Fe}(\text{OH})_3$ komplexek disszociációjának növekedését eredményezi (a pH egy egységnyi csökkentése a vas(III)-ionok oldhatóságát az ezerszeresére növeli). A vas(III) vas(II)-vé alakítása adott pH mellett a kétértékű vas lényegesen nagyobb oldhatóságát eredményezi. A kelátképzés döntően a – főleg mikroorganizmusok által termelt – szideroforok segítségével történik, és ez a mechanizmus az egyik legáltalánosabb stratégiát jelenti.

Amennyiben a vas a környezetben a mikroorganizmusok számára kevésbé hozzáférhető, sok szervezet a Fe^{3+} -ionhoz nagy affinitással rendelkező, kis molekulatömegű metabolitokat, szideroforokat és



Oldal Bálint (1973) agrármérnök (1997), mezőgazdasági szaktanácsadó mérnök (1998), tanulmányait a Pannon Agrártudományi Egyetem Mezőgazdaságtudományi Karán (ma Nyugat-Magyarországi Egyetem, Mezőgazdaságtudományi Kar), Mosonmagyaróváron végezte. 2001-től a MTA Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézetében tudományos segédmunkatárs, valamint a Szent István Egyetem Mezőgazdasági, Környezeti Mikrobiológia és Talajbiotechnológia PhD-program disszertánsa. Kitüntetései: OTDK különdíj, MTA Szabolcs-Szatmár-Bereg megyei Tudományos Testülete „Legjobb Ifjúsági Előadói-díj”.

Jevcsák István (1971) biológia-kémia szakos tanár, az Ungvári Nemzeti Egyetemen (Kárpátalja, Ukrajna) szerzett tanári diplomát 1997-ben. Tanulmányi ideje alatt több alkalommal vett részt magyarországi részképzésben. Jelenleg a Máriapócsi Általános és Alapfokú Művészeti Iskolában biológiát és kémiát tanít, valamint a Szent István Egyetem Mezőgazdasági, Környezeti Mikrobiológia és Talajbiotechnológia PhD-program disszertánsa.



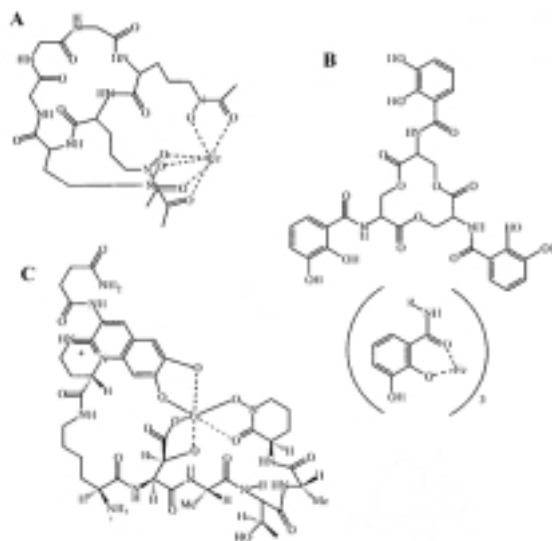
Kecskés Mihály (1931), mikrobiológus, a MTA doktora (biol.). A budapesti Eötvös Loránd Tudományegyetem TTK-n nyert „általános biológus” oklevelet (1954). 1953 és 1984 között a MTA tudományos kutatója, 1984-től a Gödöllői Agrártudományi Egyetem (ma: Szent István Egyetem) mikrobiológus professzora (a Mikrobiológiai Tanszék vezetője: 1984–1990). Jelenleg az egyetem Mezőgazdasági, Környezeti Mikrobiológia és Talajbiotechnológia PhD-programjának és a Környezetvédelmi Mikrobiológiai Kutatócsoportjának vezetője. Tanítványaival főként talajbiológiai, talaj- és környezetvédelmi mikrobiológiai, valamint talajbiotechnológiai, biohidrometallurgiai témakörökben végzett interdiszciplináris vizsgálatokat. Főbb kitüntetései: a MTA elnöke pályadíja (négy alkalommal, 1972–74), Manning-érem (Magyar Mikrobiológiai Társaság, 1986), Szent-Györgyi Albert-díj (Oktatási Minisztérium, 1999), a Magyar Professzorok Világtanácsa alapító elnöke (1998).

részben külső membránproteinek kezd termelni (ez utóbbiak szerepet játszanak a Fe–sziderofor komplex felismerésében és a vas felvételében) [13], e komponensek kioldják a vasat az ásványokból és a szerves vegyületekből (pl. transferrin, laktoferin). A szideroforok olyan kis molekulatömegű, kétértékű ligandummolekulák, melyek főként az oxigénatomon keresztül kapcsolódnak a vas(III)-ion hat oktaédes irányú kötésével, és kelátok formájában elvonják a Fe³⁺-ionokat a környezetből a mikrobiális sejtbe juttatva azt [14,15]. A vas transzportját a sejt citoszoljába egy specifikus membránreceptor közvetíti, valamint egy szállítórendszer, mely felismeri a vas–sziderofor komplexeket. Ilyenformán a mikroorganizmusok sziderofortermelése gyengén savas, neutrális vagy lúgos közegű talajokban fontos, általános jelenség. A mikrobiális sziderofortermelés jelenlétét különböző talajok esetében valóban ki is mutatták [16,17].

A fluoreszcens *Pseudomonas*-fajok két rokon sziderofort termelnek: pszeudobaktint és pyoverdint, melyek ultraibolya fényben fluoreszkálnak. Néhány fluoreszkáló *Pseudomonas*-törzs pyochelint és szalicilsavat is termel, melyek szintén szideroforként viselkednek. Sok *Pseudomonas*-törzs szideroforját tisztították már meg, illetve jellemezték kémiaiilag: pl. a *Pseudomonas* sp. B10 törzs által termelt pszeudobaktin (lineáris hexapeptid, ami egy N-hidroxi-ornitinből, egy hidroxi-aszpartátsav hidroxi-savszármazékából és fluoreszcens o-dihidroxi aromás csoportból épül fel) [18], a *P. aeruginosa* termelte pyoverdin [19], a pszeudobaktin 7SR1 [20] és az A214 [21], melyeket kórokozó *Pseudomonas*-törzsek termelnek, illetőleg a pszeudobaktin 358, melyet a *P. putida* WCS358 törzs termel. Sok fluoreszcens *Pseudomonas*-törzs képes gátolni más mikroorganizmusok növekedését kis vastartalmú táptalajon [22–24] sziderofor közvetítette ferri-vas-kompetíció által. E törzsek tisztított szideroforjai hasonló antagonistá hatást váltanak ki. A különböző *Pseudomonas*-fajok által termelt szideroforok eddig megismert szerkezeti képleteit az 1. ábrán mutatjuk be.

A fluoreszcens *Pseudomonas*-fajok sziderofortermelésének jelentőségét a növények növekedésének serkentésében elsőként Kloepper és mtsai [22] hangsúlyozták. Míg azonban a vad típusú *Pseudomonas*-fajok serkentik a növény növekedését, az ultraibolya sugárzás vagy kemikáliák által indukált mután-

sok elvesztették e gátló képességüket kis vastartalmú táptalajon. Megállapították, hogy a vizsgált növények növekedésserkentéséért a patogén rizoszféra-mikroorganizmusok és az antagonista *Pseudomonas*-fajok közötti, sziderofor közvetítette kompetíció volt a felelős. A későbbiekben ezt számos szerző demonstrálta [25–35].



1. ábra Különböző szideroforok szerkezeti képletei

A vizsgálat célja

Jelen vizsgálatban a burgonyanövény (*Solanum tuberosum* L.) talaj eredetű kórokozóival szemben antagonista *Pseudomonas*-törzsek szelekcióját tűztük ki célul. A Westsik Vilmos-féle homoki vetésforgó tartamkísérlet (Nyíregyháza) egyedülálló lehetőséget biztosít az antagonista mikrobák izolálásához. A laboratóriumi tesztek során a Westsik-vetésforgó burgonyaveteményű parcelláiból, rizoszférából és rizoplánból izolált *Pseudomonas*-törzseket vizsgáltunk *Rhizoctonia solani* (Kühn) és *Fusarium solani* mikroszkopikus gombákkal szembeni antagonizmusuk szempontjából. Az alkalmazott két különböző teszt módszer használhatóságát statisztikai értékelés (varianciaanalízis, ANOVA) alapján összehasonlítottuk.

Módszer

Mikroszervezetek

A *Pseudomonas* sp. baktériumokat a Westsik-féle homoki vetésforgó tartamkísérlet (Nyíregyháza)

különböző kezeléseiből izoláltuk. A törzsek eredetét és taxonómiai besorolását az I. táblázat tartalmazza. A *Pseudomonas* sp. megjelölésű törzsek az előzetes vizsgálatok alapján a fluorescens-putida csoportba tartozónak bizonyultak, pontos faji szintű azonosításuk folyamatban van.

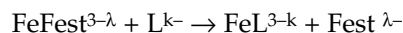
A tesztelt növénypatogén, mikroszkopikus gombák a következő fajok képviselői voltak: *Rhizoctonia solani* (Kühn) DSM No.843 (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen, Braunschweig, Germany) = ATCC 13289 (American Type Culture Collection) és a *Fusarium solani* F.00715 (Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Gyűjteménye, Szent István Egyetem, Budapest).

A sziderofortermelő képesség kimutatása

47 *Pseudomonas*-törzs sziderofortermelését a Schwyn és Neilands [36] által kidolgozott, a *Pseudomonas*-fajok teszteléséhez alkalmassá tett (módosított), króm-azurool-tartalmú King's B szilárd tápközegben történő tenyésztéssel vizsgáltuk. A táptalaj összetevői 1 liter oldathoz: 6,0 g piperazin-*N,N*-bisz (2-etánszulfonsav), 0,6 g nátrium-hidroxid, 15,0 g proteóz-pepton, 15,0 g magnézium-szulfát ($MgSO_4 \cdot 7 H_2O$), 1,5 g dikálium-hidrogén-foszfát, 10,0 g glicerin, 20,0 g agar. E szilárd összetevők elegyét desztillált vízzel 900 ml-re feltöltve a további komponenseket adagoltuk: 60,5 mg Krómazurool S (CAS) festék 50,0 ml desztillált vízben, valamint 10,0 mg vas(III)-klorid ($FeCl_3 \cdot 6 H_2O$) festék és 72,9 mg hexadecil-trimetil-ammónium-bromid (HDTMA) további 50,0 ml desztillált vízben.

A módszer lényege, hogy a szideroforok a vas(III)-ionhoz való igen nagy affinitásuk miatt szerkeze-

tüktől függetlenül kimutathatók. A folyamat a következő kémiai egyenlettel írható le:



ahol L: erős ligandum (pl. sziderofor), Fest: festékanyag.

Az élénk színű vasfestékkomplexhez erős ligandumot (pl. sziderofort) adunk. Ha a vas-ligandum komplex kialakult, a festékanyag felszabadulását színváltozás (mélyebb vagy világosabb narancssárga szín megjelenése) kíséri. Ha ligandumként EDTA-t használunk, a színváltozás a komplexometriás titrálás átcsapási pontja közelében jelenik meg [37].

A folyékony King's B kultúrában nevelt, 24 óránál nem idősebb sziderofortermelő törzseket 5 µL-es foltokban hatosával, egymástól egyenlő távolságra oltottuk az agarlemezekre. A minél kisebb telepátmérők érdekében a frissen elkészített táptalajokra csak három nap elteltével oltottuk rá a törzseket. A 48 órás 28 °C-on végzett inkubáció eltelte után az eredetileg kék táptalajon, a telepek körül megjelenő narancssárga színű gyűrű átmérőjének mérésével végeztük a kiértékelést.

Növénypatogén gombákkal szembeni antagonizmus kimutatása

A baktériumtörzseket egyesével teszteltük a gombák micéliumnövekedésére gyakorolt gátló hatás szempontjából. A vizsgálatokat szilárd maláta- és élesztőkivonatos tápközegben állítottuk be (3,0 g élesztőkivonatot, 3,0 g maláta-kivonatot, 5,0 g proteóz-pepton, 10,0 g glükóz, 20,0 g standard agar 1 liter ioncserélt vízben feloldva), két különböző technikát alkalmazva: (a) egy baktériumtörzs kétkacsnyi

I. táblázat A vizsgált *Pseudomonas*-törzsek kódja és származási helye

<i>Pseudomonas</i> sp.	A Westsik-féle tartamkísérlet kezelése*			
	I. nem művelt	IV. szalma (26.1 t/ha/3 év)	VIII. zöldtrágya (N.D.)	IX. istállótrágya (26.1 t/ha/3 év)
<i>P. aeruginosa</i>	10; X	5/2; 35/2; 20	6; 9; 34	16; 23/1; 28a; 30/2; 36
Fluorescens-putida típus	1; 2	4; 8; 12	15; 22; 38	41; 44; 47; D65; D80

*A kezeléseknél a következő műtrágyaadagokat alkalmazzák: I = 32,5 kg/ha N, 25 kg/ha P és 20,5 kg/ha K; IV = 50 kg/ha N, 50 kg/ha P és 16,2 kg/ha K; VIII = 50 kg/ha P és 16,2 kg/ha K; IX = 50 kg/ha N. N.D. = nem definiált

tenyészetét (24 h inkubációt követően) 90 mm átmérőjű Petri-csésze átellenes széleire helyeztük egymással szemben (pontoltás). A növénypatogén gomba tenyészetét tartalmazó 1 db, 5 mm átmérőjű agarkorongot pedig a csésze közepén helyeztünk el; (b) a baktériumszuszpenziót a tápközeg felületére szélesztettük, a növénypatogén gomba tenyészetét tartalmazó 1 db, 5 mm átmérőjű agarkorongot ismét a csésze közepén helyeztünk el. A módszert a tápközeghez vas(III)-iont (0,01 g/l FeCl₃ · 6 H₂O) adagolva is megismételtük.

A növénypatogén gombák és az antagonista baktériumok mindegyik kombinációját 3 párhuzamos ismétlésben, 26–28 °C hőmérsékleten inkubáltuk, és 8 nap múltán a gombatelepek átmérőjét lemértük. A baktériumok gátló hatásának megállapításához kiszámítottuk a gátlási arányt (GA%). A pontoltás esetében: $GA\% = (K-R) / K \cdot 100$; ahol K = a vizsgált gomba kontrolltelepének átmérője (mm), R = a baktériummal együtt, ellipszoid formában növekedő gombatelep rövidebb átmérője (mm). Szélesztés esetében: $GA\% = (K-B) / K \cdot 100$; ahol B = a vizsgált patogén gomba baktériummal együtt növekedő telepének (ez közelít a körformához) átmérője (mm), K = a vizsgált gomba kontrolltelepének átmérője (mm). Az adatokat egytényezős varianciaanalízissel (ANOVA) értékeltük.

Eredmények

A sziderofortermelő képesség kimutatása bioteszttel

47 korábban izolált *Pseudomonas* sp. törzs mindegyikére elvégeztük a sziderofortermelő képesség kimutatása céljából bevezetett biológiai tesztet,

melynek eredménye alapján 13 *Pseudomonas aeruginosa*, valamint 13 egyéb, szintén *Pseudomonas* sp. (fluorescens-putida csoport) törzset választottunk ki további vizsgálatra. Az említett sziderofortesztet szűrési (screening) jelleggel végeztük el, vagyis az egyes törzsek sziderofortermelése közötti különbségeket mennyiségileg nem jellemeztük, csak a sziderofor jellegű vegyületeket termelő törzseket választottuk ki (pozitív teszteredmény). A 26 szelektált törzs mindegyike képes tehát sziderofor(ok) termelésére, mely tulajdonság fontos szerepet játszik antagonista képességükben.

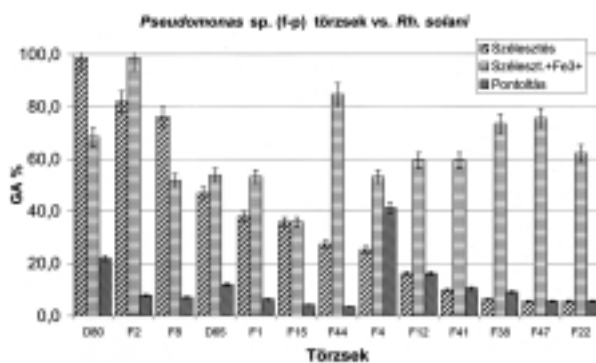
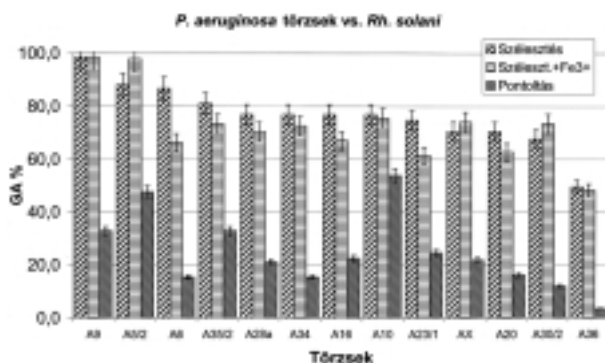
A Pseudomonas sp. törzsek antagonista képessége

A baktériumok antagonista hatásának átlagértékei a 2. és 3. ábrákon láthatók, ahol a konfidenciaintervallumokat is feltüntettük (P_{5%}). Általánosságban, a legnagyobb gátlási zónák a *Pseudomonas aeruginosa* törzsek esetében voltak megfigyelhetők. A másik csoport, a fluorescens-putida típusú *Pseudomonas*-ok ennél gyengébb gátló hatást mutattak. Bár a szakirodalomban nincs erre vonatkozó adat, az eredmények mégis arra mutatnak, hogy a két csoport antagonista képessége különböző mechanizmus szerint alakul, amely további vizsgálatok tárgya.

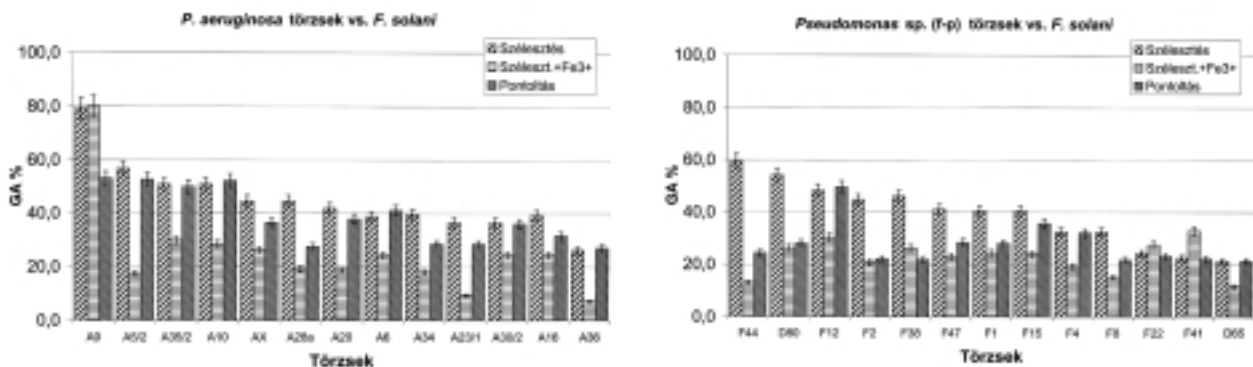
A *Pseudomonas aeruginosa* csoportban a 9 és 5/2 jelű törzsek mutatták a leghatásosabb antagonizmust, a másik *Pseudomonas* sp. csoportból pedig a D80 és 44 jelű törzsek emelkedtek ki a gátló hatást illetően.

A kórokozók érzékenysége a Pseudomonas sp. törzsekkel szemben

Az összes vizsgált baktériumtörzs nagymértékben gátolta mind a *Rhizoctonia solani* ATCC 13289, mind



2. ábra *Pseudomonas*-törzsek antagonista hatása *Rhizoctonia solani* ATCC 13289 gombával szemben (P_{5%}; f-p: fluorescens-putida típus)



3. ábra *Pseudomonas*-törzsek antagonista hatása *Fusarium solani* F.00715 gombával szemben ($P_{5\%}$; f-p: *fluorescens-putida* típus)

pedig a *Fusarium solani* F.00715 gomba növekedését. A *Rhizoctonia* viszont mindkét vizsgálati módszer esetében érzékenyebb volt. A *R. solani* érzékenysége 3,5–98,6 GA% között adódott, míg a *F. solani*-é csak 21,2–79,3 GA% volt. Ez a tulajdonság azonban aligha általánosítható, mivel jelen munkában csak egy *Fusarium*, illetve *Rhizoctonia* törzset vizsgáltunk.

Az in vitro technikák összehasonlítása antagonista képesség szempontjából

A baktériumtörzsek antagonista hatásában jelentős eltérés mutatkozott a két említett módszer között. A legerősebb gátlást a szélesztéses technikával beállított tenyésztésnél mértük. A szélesztéses módszer esetében a tápközeghez adagolt vas(III)-ion a baktériumtörzsek többségénél csökkentette az antagonizmus mértékét, így feltehető, hogy a gátlás kialakításában a vaskötő jellegű sziderofor(ok) termelésének fontos szerepe van. A *Rhizoctonia solani* ATCC 13289 gomba elleni gátló hatás kialakulásában viszont elsősorban másféle mechanizmus (pl. antibiotikumtermelés) játszhat szerepet.

Jóllehet a pontoltás esetében kisebb mértékű gátlást tapasztaltunk, a baktériumok ekkor is megakadályozták a patogén szkleróciumainak kifejlődését az inkubáció teljes 8 napja alatt. A kapott adatokból kitétni, hogy az oltásnál alkalmazott két technika között statisztikailag igazolható különbség van. E módszerek immanens tulajdonsága ugyanis, hogy szélesztéssel hatékonyabb antagonizmust tapasztalunk (nagyobb méretű gátlási zónák alakulnak ki), mint pontoltással, mivel a biológiai kontroll ágens és a patogén mikroorganizmusok közvetlenül érintkezhetnek egymással.

Konklúzió

Két különböző *in vitro* módszer alkalmazásával vizsgáltuk néhány – a növényi fitneszt elősegítő – rizoszféra eredetű baktérium gátló hatását talajban előforduló, növénypatogén mikroszkopikus gombával szemben. Előzetes vizsgálat keretében, egyszerű bioteszttel kimutattuk, hogy a baktériumtörzsek sziderofor jellegű anyagok termelésére képesek, mely tulajdonság szerepet játszik az antagonizmus kialakulásában. Az alkalmazott biológiai tesztmódszert ismertettük. A szélesztéses módszerrel beállított együtt-tenyésztés esetében közel 100%-os gátlási arányt tapasztaltunk, míg a pontoltásos tenyésztés csupán 50% körüli eredményt adott. Ez alátámasztja az antagonista baktérium és a célzott ágens közötti közvetlen (kontakt) érintkezés fontosságát a biológiai kölcsönhatás kialakulásában. Mindkét tárgyalt laboratóriumi eljárás felhasználható az antagonista jelleg eldöntésére, azaz a biológiai kontroll céljára alkalmazható baktériumtörzsek egyszerű módszerrel történő előzetes kiválasztására.

Az eredmények alapján feltételezhető, hogy az antagonizmus kialakításában a baktériumok (pl. a vizsgált *Pseudomonas* genus képviselői) sziderofortermelése is közrejátszik, minthogy az itt bemutatott törzsek mindegyike termel sziderofor jellegű másodlagos anyagcseretermékeket, melyek a környezetükben előforduló egyéb mikroorganizmusokkal szemben a táplálkozási verseny során előnyhöz juttatják őket [38,39].

A gombákat gátló (antifungális) hatás azonban valószínűleg egyéb, a sziderofor termelésétől eltérő tulajdonságoktól is függ, pl. antibiotikumtermelés, szaporodási sebesség stb. [40,41]. Valamely baktéri-

umtörzs antagonista képessége nagymértékben függ továbbá magától a patogén ágenstől is.

A *Pseudomonas aeruginosa* baktériumtörzsek növényi kórokozó gombákkal szembeni gátló hatása kevésbé kutatott terület, mivel ez a faj opportunistá emberi kórokozó is egyben. Ezzel együtt azonban gyakori, ubikvita tagjai a talajökoszisztémának, így a talajok mikrobaközösségével állandó kölcsönhatásban állnak. Jelen vizsgálat során a tesztgombákkal szemben az egyéb nem patogén *Pseudomonas* sp. törzsekhez képest szignifikánsan nagyobb mértékű gátló hatást mutattak. A fluorescens-putida csoport tagjai ugyanakkor szintén sikerrel alkalmazhatók a talajban előforduló növényi kórokozókkal szemben, pl. az alma talajuntság elleni védekezésben, melyet tenyészedényes vizsgálatok bizonyítanak [40;41]. Az előzetesen szelektált, humán patogenitást nem mutató, hatékony antagonista baktériumtörzsek integrált növényvédelemben történő felhasználásának jelentőségét ezért kiemelkedőnek ítéljük.

Irodalomjegyzék

- [1] Bakker, P. A. H. M., Bakker, A. W., Marugg, J. D., Weisbeek, P. J., Schippers, B. (1987) Bioassay for studying the role of siderophores in potato growth stimulation by *Pseudomonas* spp. in short potato rotations. *Soil Biol. Biochem.*, **19**: 443–449.
- [2] Cook, R. J., Baker, K. F. (1983) The nature and practice of biological control of plant pathogens. (Amer. Phytopatholog. Soc., St. Paul, MN, USA) p. 539.
- [3] Bayoumi Hamuda, H. E. A. F., Kecskés, M., Kiss, Z., Várady, Gy., Balázs, S., Kucsma, N. (1995) Különböző talajtenyésztők hatása a *Rhizobium leguminosarum* törzsek szaporodására és túlélésére. *Agrokémia és talajtan*, **44**: 463–472.
- [4] Weller, D. M. (1988) Biological control of soil-borne pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **26**: 379–407.
- [5] Scher, F. M., Baker, R. (1982) Effect of *Pseudomonas putida* and a synthetic iron chelator on induction of soil suppressiveness to *Fusarium* wilt pathogens. *Phytopathology*, **72**: 1567–1573.
- [6] Weller, D. M., Cook, R. J. (1983) Suppression of a take-all of wheat by seed treatments with fluorescent pseudomonads and implications of Pythium control. *Can. J. Plant Pathol.*, **8**: 328–334.
- [7] Stutz, E. W., Defago, G., Kern, H. (1986) Naturally occurring fluorescent pseudomonads involved in suppression of black roo rot of tobacco. *Phytopathology*, **76**: 181–185.
- [8] Bowen, G. D., Rovira, A. D. (1976) Microbial colonization of plant roots. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **14**: 121–144.
- [9] Rovira, A. D., Sands, D. C. (1971) Fluorescent pseudomonads: a residual component in the soil microflora? *J. Appl. Bact.*, **34**: 253–259.
- [10] Leisinger, T., Margraff, R. (1979) Secondary metabolites of the fluorescent pseudomonads. *Microbiol. Rev.*, **43**: 422–442.
- [11] Lindsay, W. L., Schwab, A. P. (1982) The chemistry of iron in soils and its availability to plants. *J. Plant Nutr.*, **5**: 821–840.
- [12] Neilands, J. B., Konopka, K., Schwyn, B., Coy, M., Francis, R. T., Paw, H., Bagg, A. (1987) Comparative biochemistry of microbial iron assimilation. In: Iron Transport in Microbes, Plants and Animals. (Winkelmann, G., van der Helm, D., Neilands, J. B. Eds.), (VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, Germany) pp. 3–33.
- [13] Weger, L. A. de, Boxtel, R. van, Burg, B. van der, Gruters, R., Geels, F. P., Schippers, B., Lugtenberg, B. (1986) Siderophores and outer membrane proteins of antagonistic, plant-growth-stimulating, root-colonizing *Pseudomonas* spp. *J. Bacteriol.*, **165**: 585–594.
- [14] Neilands, J. B. (1981) Microbial iron compounds. *Annu. Rev. Biochem.*, **50**: 715–731.
- [15] Leong, J. (1986) Siderophores: their biochemistry and possible role in the biocontrol of plant pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **24**: 187–209.
- [16] Powell, P. E., Cline, G. R., Reid, C. P. P., Szaniszló, P. J. (1980) Occurrence of hydroxamate siderophore iron chelators in soils. *Nature*, **287**: 833–834.
- [17] Akers, H. A. (1981) The effect of waterlogging on the quantity of microbial iron chelators (siderophores) in soil. *Soil Sci.*, **132**: 150–152.
- [18] Teintze, M., Hossain, M. B., Barnes, C. L., Leong, J., van der Helm, D. (1981) Structure of ferric pseudobactin, a siderophore from a plant growth promoting *Pseudomonas*. *Biochemistry*, **20**: 6446–6457.
- [19] Wendenbaum, S., Demange, P., Dell, A., Meyer, J. M., Abdallah, M. A. (1983) The structure of pyoverdine, the siderophore of *Pseudomonas aeruginosa*. *Tetrahedron Lett.*, **24**: 4877–4880.
- [20] Yang, C., Leong, J. (1984) Structure of pseudobactin 7SR1, a siderophore from a plant-deleterious *Pseudomonas* strain. *Biochemistry*, **23**: 3534–3540.
- [21] Buyer, J. S., Wright, J. M., Leong, J. (1986) Structure of pseudobactin A 214, a siderophore from a bean-deleterious *Pseudomonas*. *Biochemistry*, **25**: 5492–5499.
- [22] Kloepper, J. W., Leong, J., Teintze, M., Schroth, M. N. (1980) Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature*, **286**: 885–886.
- [23] Geels, F. P., Schippers, B. (1983) Selection of antagonistic fluorescent *Pseudomonas* spp. and their root colonization and persistence following treatment of seed potatoes. *Phytopathology*, **108**: 193–206.
- [24] Buyer, J. S., Leong, J. (1986) Iron transport-mediated antagonism between plant growth-promoting and plant-deleterious *Pseudomonas* strains. *J. Biol. Chem.*, **261**: 791–794.
- [25] Kloepper, J. W., Leong, J., Teintze, M., Schroth, M. N. (1980) *Pseudomonas* siderophores: A mechanism explaining disease suppressive soils. *Curr. Microbiol.*, **4**: 317–320.
- [26] Geels, F. P., Schippers, B. (1983) Reduction in yield depressions in high frequency potato cropping by fluorescent *Pseudomonas* spp. *Phytopathology*, **108**: 207–214.
- [27] Geels, F. P., Schmidt, E. D. L., Schippers, B. (1985) The use of 8-hydroxyquinolin for the isolation of plant growth-stimulating rhizosphere pseudomonads. *Biol. Fert. Soils*, **1**: 167–173.
- [28] Sneh, B., Dupler, M., Elad, Y., Baker, R. (1984) Chlamydo spore germination of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* as affected by fluorescent and lytic bacteria from *Fusarium*-suppressive soil. *Phytopathology*, **74**: 1115–1124.
- [29] Wong, P. T. W., Baker, R. (1984) Suppression of wheat take-all and Ophiolobus patch by fluorescent pseudomonads from *Fusarium*-suppressive soil. *Soil. Biol. Biochem.*, **16**: 397–403.
- [30] Elad, Y., Baker, R. (1985) The role of competition for iron and carbon in suppression of chlamydo spore germination of *Fusarium* spp. by *Pseudomonas* spp. *Phytopathology*, **75**: 1053–1059.
- [31] Baker, R., Elad, Y., Sneh, B. (1986) Physical, biological and host factors in iron competition in soils. In: Iron, Siderophores and Plant Diseases. (Swinburne, T.R., Ed.), (Plenum Press, New York, USA) pp. 77–84.
- [32] Scher, F. M. (1986) Biological control of *Fusarium* wilts by *Pseudomonas putida* and its enhancement by EDDHA. In: Iron, Siderophores and Plant Diseases. (Swinburne, T.R., Ed.), (Plenum Press, New York, USA) pp. 109–117.
- [33] Schippers, B., Bakker, A. W., Bakker, P. A. H. M. (1987) Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **25**: 339–358.
- [34] Becker, O., Cook, R. J. (1988) Role of siderophores in suppression of *Pythium* species and production of increased-growth response of wheat by fluorescent pseudomonads. *Phytopathology*, **78**: 778–782.
- [35] Loper, J. E. (1988) Role of fluorescent siderophore production in biological control of *Pythium ultimum* by a *Pseudomonas fluorescens* strain. *Phytopathology*, **78**: 166–172.
- [36] Schwyn, B., Neilands, J. B. (1987) Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Anal. Biochem.*, **160**: 47–56.
- [37] Schwarzenbach, G., Flaschka, H. (1969) Complexometric Titrations. (Methuen, London, UK)
- [38] Elliot, L. F., Gilmour, G. M., Lynch, J. M., Tittermore, D. (1984) Bacterial colonization of plant roots. In: Microbial Interactions. (Todd, R.L., Giddens, J.E., Eds.), (Soil Sci. Soc. Amer., Madison, WI, USA) pp. 1–16.
- [39] Cook, R. J. (1993) Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. *Ann. Rev. Phytopathol.*, **31**: 53–80.
- [40] Biró, B., Magyar, K., Várady, Gy., Kecskés, M. (1998) Specific replant disease reduced by PGPR rhizobacteria on apple seedlings. *Acta Hort.*, **477**: 75–81.
- [41] Buysens, S., Heungens, K., Poppe, J., Hofte, M. (1996) Involvement of pyochelin and pyoverdine in suppression of *pythium*-induced damping-off of tomato by *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2. *Appl. Environ. Microbiol.*, **62**: 865–871.

Fiatal Biotechnológusok Nívódíja

Tájékoztató a Magyar Biokémiai Egyesület és a MTA Biomérnöki Munkabizottság által alapított szakmai kitüntetéséről.

A 8. Európai Biotechnológiai Kongresszus anyagi sikere lehetővé tette, hogy egy jelentős összeget alapítványi célra különítsünk el, amelyből évente hét egyetemen készült, egy-egy biotechnológiai tárgyú diplomamunkát lehet jutalmazni. A részben erre a feladatra létrehozott Operatív Bizottság gondoskodik a diplomamunkák kiválasztásáról, a legjobb diplomamunkák készítőinek a *Fiatal Biotechnológusok Nívódíjának* odaítéléséről és 30–30 ezer forintos jutalmazásáról. A díj értékállóságának megtartására az alapösszeg kamatát használjuk fel. Az elkülönített keret kb. 10 éven keresztül teszi lehetővé a díj kiosztását.

Az Operatív Bizottság, (melynek tagjai: Dr. Nyeste László a MTA Biomérnöki Munkabizottságának elnöke, Dr. Szajáni Béla a MBKE főtítkárhelyettese, Dr. Szentirmai Attila a MBKE Biotechnológiai Szakosztályának volt elnöke) ez évben hat egyetemen adott ki Nívódíjat.

Fiatal Biotechnológusok Nívódíja kitüntetésben részesültek az alábbi hallgatók a következő című diplomamunkájukkal (zárójelben a témavezetőjük nevét is megadtuk):

Barna László (BMGE, Fizikai Kémia Tanszék, Orvosbiológiai Mérnökképzés, témavezető: Dr. Zrinyi Miklós) „*Alegységek közötti ionpárhálózat ter-*

vezése 3-izopropil-malát dehidrogenáz enzim hőstabilitásának növelésére”

Belák Ágnes (Szent István Egyetem, Budapest, Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszék, témavezető: Dr. Maráz Anna) „*Takarmányok jellemző élesztőbiotájának diverzitása*”

Kiss Gábor (Szent István Egyetem, Gödöllő, Biotechnológia és Molekuláris Genetika Tanszék, témavezető: Dr. Holczinger András) „*A Bacillus licheniformis BLF fág immunitásrégiójának molekuláris jellemzése*”

Lukács Gyöngyi (Szegedi Tudományegyetem, Mikrobiológiai Tanszék, témavezető: Dr. Vágvölgyi Csaba) „*A Rhizomucor miehei járomspórás gomba 3-hidroxi-3-metilglutaril koenzim-A (HMG-CoA) reduktáz génjének klónozása*”

Nagy Zsolt (ELTE, TTK Növényélettani Tanszék, témavezető: Dr. Tamás László) „*Új, egylépéses, egy univerzális, és egy mutációs primert igénylő, irányított mutációs PCR módszer*”

Németh Áron (BMGE, Mezőgazdasági Kémia és Technológia Tanszék, témavezető: Dr. Sevelle Béla) „*1,3-propándioldehidrogenáz fermentációja Klebsiella pneumoniae-vel*”

A jutalmazottaknak e helyen is gratulálunk, és valamennyiüknek sikeres tudományos életutat kívánunk.

Budapest, 2002. július

Nyeste László
az Operatív Bizottság elnöke

FELHÍVÁS

Köztudott, hogy a magnézium mintegy 350 enzim aktivátora, de eddig erről gyűjteményes munka nem készült. A Magyar Magnézium Társaság egy füzetben szeretné a magnézium által aktiválható enzimek listáját összegyűjtve kiadni. Ehhez kérjük a vegyészeket, biológusokat és különösen az enzimkémiai foglalkozókat, hogy legyenek segítségünkre: a magnézium aktiválta reakciót, és ha lehet, annak irodalmi hivatkozását az alábbi címre megküldeni szíveskedjenek:

Dr. Kiss A. Sándor 6726 Szeged, Fő fasor 73A/2, tel./fax: (62) 432-298

Példa: foszfo-enol-piroszőlősav-karboxiláz enzim:
PEP + CO₂ → OE
Mukerji, S.K. (1974) Plant Sci. Lett., 2, 243-248.

Erratum:

Előző számunkban Bókkon István „*A nanobaktériumok világa*” című cikkébe (*Biokémia*, XXVI (2): 35–42, 2002) sajnálatos véletlen folytán hiba csúszott: a közlemény utolsó irodalmi hivatkozása helyesen [27] Lorber, B. (1999) Are all diseases infectious? Another look. *Ann. Intern. Med.*, **131**: 989–990.

TERMOCYCLEREK A BIOMETRÁTÓL

Nálunk megtalálja
az igényeinek
legjobban
megfelelőt

Biometra[®]
a Whatman Company



PIPETTÁK A RATIOLABTÓL



ratiopetta

Minden pipetta digitális és autoklávozható.

1 csatornás - rövid és átlagos hosszúságban,
méréstartományuk: 0,5-1000 μ l

8-12 csatornás pipetták,
méréstartományuk: 0,5-300 μ l

ratiolab[®]

Képviselet és szervíz:

NOVO-LAB



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



Kápolnai László, *Toronyház* (2001), olaj, papíron

Képzőművészeti munkákkal műkedvelő szinten fiatal kora óta foglalkozik, a közönség előtt megmutatkozó művészé Butak András biztatására vált, s 1997 óta csoportos és egyéni tárlatokon rendszeresen mutatja be grafikai és festői munkáit. Szintén 1997 óta a Szabad Képző- és Iparművészek Országos Szövetségének tagja. Eleinte főként rajzolt, a festészetre 1997-



Kápolnai László, *Esernyők* (1980), olaj-pasztell, papír

ben – nem kis mértékben Butak bátorítása nyomán – tért át. Az expresszionizmushoz közel álló grafikai és festői munkáit egyaránt az erős dinamikájú eszközhasználat jellemzi, melyben mind a határozott vonal-

vezetés, mind pedig az erőteljes színhasználat fontos szerepet játszik – ezek nyomán a képei keltette érzetet a drámai hatásokig tudja emelni. A két technika közötti váltás ugyanakkor tükröződni látszik a grafikai és festményei között megfigyelhető eltérő ábrázolás- és megközelítésmódban: grafikai munkái expresszív, de a tényleges látványt megragadó kísérletek, festményei inkább az absztraktba hajlanak. A vastag, tömör vonalak a kompozícióteret durván feldarabolják, a formai

keretek dinamikáját erős kontúrok, torzítások fokozzák, s a kompozíciós térrészekben erős, gyakran egymástól erősen elütő színeket használ. Láttatási módja kifejező művészet: nem törekszik hagyományos értelemben „szép” képet festeni, nem gyönyörködött, hanem – expresszionista módon – az erős grafikai hatásokkal súlyos érzelmeket ébreszt.

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

Kápolnai László 1958-ban született Budapesten, és 1983-ban végzett a Budapesti Műszaki Egyetem Vegyészmérnöki karának biológus mérnöki szakán. Farmakológus kutatóként dolgozott az EGIS Gyógyszergyár stabilitásvizsgáló, majd farmakológiai laboratóriumaiban (izolált szervi kutatócsoport), szakterülete a különböző hormonreceptorokra, a hisztamin-, prosztaglandin- és elsősorban a szerotoninreceptorokra ható vegyületek *in vitro* vizsgálata. Így részt vett egy, a központi idegrendszer működését befolyásoló anxiolitikus hatóanyag kifejlesztésében. Egyetemi doktori fokozatát is e témakörben védte 1991-ben a Semmelweis Orvostudományi Egyetem Gyógyszerhatástani Intézetében. Szakmai munkásságáról hazai és nemzetközi tudományos szakcikkekben számolt be, társtíltaláló három szolgálati szabadalomban, valamint egy gyári újításban.



Kápolnai László, *Innsbruck* (1996), olaj, vászon, faroston



Kápolnai László, *Buborékok* (2001), vászon, faroston

A Peptikémiai Munkabizottság tudományos ülése Balatonszemesen

A Magyar Tudományos Akadémia Kémiai Tudományok Osztályának Szerves és Biomolekuláris Bizottságának Peptidkémiai Munkabizottsága 2002. május 29. és 31. között rendezte tudományos ülését, a hagyományosnak tekinthető helyszínen, a Richter Gedeon Vegyészeti Gyár Rt. balatonszemesi üdülőjében (köszönhetően a Rt. évek óta folyamatos támogatásának). A gyönyörű – bár szeles – időnek a résztvevők nem igazán örülhettek, hiszen a program minden eddigi évet felülmúló módon zsúfolt volt. Az ülésen 21 intézet 58 munkatársa tartott előadást, a résztvevők száma is megdöntötte az eddigi rekordot és meghaladta a 90-t.

Bajusz Sándor a munkabizottság idén leköszönő elnöke nyitotta meg a konferenciát, majd az első előadó, Lengyel András (Reanal Rt.) ismertette azokat a fejlesztéseket, melyek a Reanal Rt. által forgalmazott polisztirolalapú hordozókban az elmúlt években történtek. Kocsis László (MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport) doktori munkájáról számolt be, melynek során poli(etilén-glikol) linkereket épít be polisztirol hordozókba. Mind a szintézis részletei, mind a termékek jellemzése (különösen a duzzadási adatok) nagyfokú érdeklődést váltottak ki. Bakos Krisztina (SZTE Orvosi Vegytani Intézet) új gamma-szekretáz inhibitorok szintéziséről számolt be. Mucsi Zoltán (ELTE Szerveskémia Tanszék) egy proteáz-inhibitor peptid szétDarabolásával igyekezett a gátló hatást megőrző, rövidebb analógokat előállítani. Az előadó a munka legújabb szintetikus, NMR- és elméleti számítási eredményeit foglalta össze. Ligeti Melinda (MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport) nociceptin karbamoil kötést valamint béta-alanint tartalmazó származékainak szintéziséről beszélt. Farkas Judit (MTA SZBK, Biokémiai Intézet) nociceptinanalóg peptidek triciálását mutatta be. E származékokkal a későbbiekben még találkozunk. Farkas Viktor (ELTE Szerveskémia Tanszék) az béta-laktalbumin Ca-ion-kötőhelyével kapcsolatos vizsgálatait ismertette. A szekció utolsó előadója Mező Gábor (MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport) volt, aki édesapja, Mező Imre által kifejlesztett GnRH-III antitumor hatású peptid konjugátumainak szintéziséről számolt be. A konjugátumok szintézise HPLC segítségével követhető volt, így mód nyílt a

korábban megszokottnál sokkal jobban jellemzett vegyületek előállítására.

Az analízis szekció első előadója Bősze Szilvia (MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport) volt, aki módszert dolgozott ki OPA reagens segítségével biológiai mátrixban hisztamin meghatározására. A módszer érdekessége abban rejlik, hogy a hisztamin OPA-származéka csak kis érzékenységgel detektálható, valamint hogy a mátrixban nagy mennyiségben található zavaró komponensek. Szabó Pál (MTA KKKI) néhány szép „iskolapéldát” mutatott be annak illusztrálására, hogy a tömegspektrumok értelmezéséhez elengedhetetlen a szintetikus vegyészek megfelelő adatszolgáltatása. Hajnal Andrea (MTA SZBK) ismertette az Intézet Tömegspektrometriai Laboratórium műszerparkját, valamint beszámolt a TIMP1 (126-184) 3 diszulfidhidat tartalmazó peptid diszulfid-szerkezetének felderítéséről. A peptid két strukturizomer keverékből áll, melyek HPLC-s elválasztására tett kísérletek sikertelenek maradtak. Mihala Nikolett (MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport) az előző előadóhoz kapcsolódva ismertette vizsgálatait a TIMP1 (126-184) peptidben tömegspektrometriás úton kimutatott szennyezés eredetére vonatkozóan. Meglepő adatokat mutatott a peptid bomlására Hg²⁺-ionok jelenlétében savas és bázikus közegben egyaránt. A tömör, problémafelvető előadás intenzív vitát eredményezett. Kele Zoltán (SZTE, Orvosi Vegytani Intézet) előadásában ismertette az általuk „házilag” kifejlesztett eszközt, amelyet tömegspektrométer és kapilláris elektroforézis készülék összekapcsolásával alakítottak ki. A kapcsolt rendszer alkalmazhatóságát néhány példával illusztrálta. Schlosser Gitta (MTA KKKI) az ülés egyik legszebb előadását tartotta, amelyben bemutatta, hogy a korábbi tapasztalatokkal ellentétben, polilizin vizsgálható mind MALDI-, mind ESI-MS technikával. Eredményei nagyon fontosak, hiszen ez a gyógyszerkutatói szempontból igen lényeges vegyület hagyományos analitikai módszerekkel gyakorlatilag nem jellemezhető. A szekció utolsó előadója Imre Tímea (MTA KKKI) volt, aki telített és telítetlen zsírsavak béta-laktoglobulinnal alkotott komplexek ESI-MS vizsgálatáról számolt be.



A Munkabizottsági Ülés résztvevői, háttérben a viharos Balaton.

A vacsorát követően először gratuláltunk Bajusz Sándornak és Medzihradzky Kálmánnak, akik megosztva elnyerték az Európai Peptid Társaság Rudinger-díját, majd Hudecz Ferenc (MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport), Kéri György (SE, Orvosi Vegytani Intézet) és Janáky Tamás (SZTE, Orvosi Vegytani Intézet) tartottak összefoglaló előadásokat a proteomika tárgykörében. Az összefoglalókat hosszú kerekasztal-beszélgetés követte (némi bor társaságában), ahol a jelenlévők megvittatták a „Peptidkémia” helyét és szerepét az emberi genom megismerését követő időszakban.

Az első csütörtöki előadó Dibó Gábor volt (ELTE, Szerveskémiai Tanszék), aki az előző esti megbeszéléshez kapcsolódóan a peptidkombinatorikus megközelítés jelentőségéről beszélt. Dormán György a ComGenex Kft. kombinatorikus kémiai fejlesztéseit mutatta be. Bánhegyi Gábor Péter (SE Kooperációs Kutatóközpont) CDK1 inhibitorként használható spiro(1-benzazepin-4,1-ciklohexán)-származékok szintézisét ismertette, majd Székelyhidi Zsolt (SE Kooperációs Kutatóközpont) mutatta be az általa kidolgozott eljárást dihidroxi-izokinolin-karbonsav-származékok szintézisére DOPA-ból. Hegymegi-Barakonyi Bálint (SE Kooperációs Kutatóközpont) kombinatorikus megközelítéssel szilárd fázison szintetizált többszáz szubsztituált izokinolin-aminosav-származékot, és vizsgálta antiproliferatív hatásukat. Szántai Kis Csaba (SE Kooperációs Kutatóközpont) kinázinhibitorokra végzett QSAR számításait ismertette.

A szerkezet-hatás szekció nyitóelőadását Bajusz Sándor (IVAX Gyógyszerkutató Intézet) tartotta, aki a véralvadást gátló hatású peptid-aldehid-inhibi-

torok kutatásának legújabb eredményeit ismertette, többek között, nem természetes aminosavtartalmú származékokat. A nagyszámú származék vizsgálata sem tette lehetővé egyértelmű konklúzió levonását. Füzéry Anna (ELTE Szerveskémiai Tanszék) a c(RGDVL) ciklopeptid (és *D*-valin tartalmú izomerjének) NMR-szerkezetvizsgálatáról számolt be. Megállapította, hogy a peptidet két, egymással lassú konformációs egyensúlyban álló izomer elegye alkotja. A konformerek azonosításához a NOE adatgyűjtés még nem fejeződött be. Bujdosó Erika és Jászberényi Miklós (SZTE Kórélettani Intézet) előadásaikban a MERF peptidok hatásmechanizmusának felderítésében elért legújabb eredményeket ismertették. A szekció utolsó előadójaként Péter Antal (SZTE Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék) MTA doktori disszertációjának eredményeit mutatta be: aminosavszármazékok analízisének szinte összes aspektusát, rengeteg példával illusztrálva.

A délutáni szekció Uray Katalin előadásával vette kezdetét (MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport), aki a 60 kD hősokkfehérje építőpajinak lehetséges HIV-diagnosztikai felhasználását ismertette, majd Windberg Emőke (MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport) mutatta be, hogy egy PTGTQ mucin-2 építőp kötődésére milyen hatást gyakorol a peptid C-terminálisán található lebegő szakasz módosítása. Bánóczi Zoltán (MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport) mucin-1 szekvenciájából származó APDTRPAP peptidet, valamint ciklikus származékait szintetizálta. Beszámolt a peptidok oligo-*tufts*-hordozóhoz való konjugálásáról is. Jakab Annamária (MTA-ELTE Peptidkémiai Kutató-

csoport) előadása sokak figyelmét felkeltette, mivel az irodalomban először ismertetett összehasonlító vizsgálatot különböző hordozókhoz való peptid-konjugálásról. Eredményeit jól dokumentálta gondos analitikai adatok ismertetésével. Tömböly Csaba (MTA SZBK) szelektíven tríciummal jelzett endorfin-1 és -2 peptidek, valamint ezek nem természetes aminosavat tartalmazó származékainak metabolizmusát vizsgálta. Az előadást hosszú vita követte arról, hogy milyen alternatív módszerek lehetségesek metabolizmusvizsgálatnál az agyhomogenizátum használata helyett, hiszen a homogenizátum sok olyan enzimet is tartalmaz, amely a homogenizálás során válik hozzáférhetővé, és amivel az intravénás úton a szervezetbe juttatott peptid nem találkozna. Kőhidai László (SE ÁOK, Genetikai Tanszék) az előző évi előadásához kapcsolódva ismertette az SXWS, valamint WSXWS peptidek kemotaktikus hatásáról nyert legfrissebb eredményeit. Az előadás kapcsán újabb izgalmas vita kezdődött az MTT-teszt használatáról sejtszám meghatározására. Az előadó kifejtette, hogy esetükben a módszer használhatóságát áramlásos citometria (*flow-cytometry*) segítségével igazolták, mely eljárás más esetben is javasolható. Az utolsó pillanatban megérkező Sallai Krisztina (ELTE, Immunológiai Tanszék) bemutatta, hogy az IgG Fc szakaszából származó peptidek hatást gyakorolnak makrofág tenyészetek citokintermelésére, ezzel igazolta a választott peptidek immunmodulátor jellegét.

Az elméleti kémiai szekció nyitó előadását Klement Éva (SZTE Orvosi Vegytani Intézet) tartotta, aki a bétaA (25-35) peptid aggregációjának vizsgálatára dolgozott ki FT-IR eljárást; megállapította, hogy az N-terminális aminosav norleucinnal való helyettesítése gyorsítja az aggregációt. Martinek Tamás (SZTE Orvosi Vegytani Intézet) oligo-(amino-ciklopentán-karbonsavak) szintéziséről és NMR-, FT-IR, valamint CD vizsgálatáról számolt be. Az 1R, 2S konfigurációjú oligopeptid hatos redőzött szálal alkot, míg az 1R, 2R aminosavakból felépülő származék helikális szerkezetű. A következő hét előadó Perczel András (ELTE Szerveskémiai Tanszék) csoportjából került ki. Pálfi Villó az Ala-béta-Ala-Pro-béta-Ala ciklopeptid szerkezetét vizsgálta NMR spektroszkópiával, valamint kvantumkémiai számításokkal. Megállapította, hogy a peptidet öt konformer egyensúlyi keveréke alkotja, mindegyik tartalmaz γ -csavarulatot (γ -turn). Az eredmények segítségével az FT-IR sávok asszignálhatók voltak.

Beke Tamás β -aminosavak Ramachandran-szerű diagramjának elkészítésére dolgozott ki módszert. Megállapította, hogy a három torziós szög alapján ábrázolt négydimenziós konformációsenergia-felzártan a minimumok egy metszeten találhatóak, így ha a négydimenziós ábrának ezt a metszetét kismítjük, akkor három dimenzióban ábrázolhatók az energiaminimumok. α -helikális peptid-modellek szintézise a hélix első menetének kialakítása miatt nehéz. Kiss Róbert előadásában egy olyan megoldást ismertetett, ahol az első menet egy ciklopeptid, amely indukálja a peptid „farkrészének” feltekeredését. Egy ciklopeptid szintézisével és NMR vizsgálatával igazolták, hogy a megközelítés helyes. Czajlik András fehérjék másodlagos szerkezetének és a C α , C β , H α NMR eltolódásoknak a korrelációját vizsgálta, megállapítva, hogy ezen NMR adatokból a gerinckonformáció meghatározható. Hudáky Péter hisztidin pK-értékének számítására dolgozott ki módszert, Hudáky Ilona a diszulfidhidas -Cys-Cys- szekvenciareészletet vizsgálta. Számítással 144 lehetséges konformert talált, melyek között *cisz*-peptidkötést tartalmazók is voltak. Ilyen származékok létét NMR vizsgálatok alátámasztják, de röntgenkristallográfiás adatbázisban nem találtak rá példát. A számított eredmények jól illeszkednek a röntgenkristallográfiával nyert adatokra. Gáspári Zoltán az évek óta népszerű SGCI és SGTI proteáz inhibitor peptidek szerkezetét vizsgálta dinamikai szimulációval. Megállapította, hogy míg a szerkezet egyes részei nagy mozgékonyt mutatnak, a β redők relatív helyzete alig változik. A szekció utolsó előadója Leitgeb Balázs (MTA SZBK) volt, aki endomorfin-2 peptid-származékokra végzett dinamikai szimulációt. A talált konformációs valószínűségeket korreláltatta a peptidek biológiai hatásával.

A vacsora után rövid munkabizottsági megbeszélést tartottunk, majd két további összefoglaló előadás következett Hollósi Miklós és Perczel András (ELTE Szerveskémiai Tanszék) előadóktól. A hosszúra nyúlt programot a résztvevők többsége a Vén Halász Bisztróban zárta, hajnalig tartó, nem kizárólag szakmai jellegű kerekasztal-megbeszéléssel. Hasonló éjszakai programok nem egyedülállóak a munkabizottság sokéves történetében, azonban az ideje a résztvevők magas számát tekintve mindenképpen ritkaságnak számított.

Az utolsó napi programot Dirk Tourwe (*Vrije Universiteit*, Brüsszel) vendégelőadó nyitotta, aki

neurotenzin peptidanalógokról számolt be. A tartalmas előadás kitért az érdekes szintézisekre, a Tc^{99m} és F^{18} jelzésekre, valamint a stabilitási és biodisztribúciós vizsgálatok eredményére. Az előadást néhány humán alkalmazási példa zárta. Tóth Géza (MTA SZBK) olyan endomorfinszármazékokat ismertetett, melyek ciklusos β -aminosavat tartalmaztak. A származékok egy részében *cisz*-peptidkötés alakult ki. Az előadást követő vitában a résztvevők felidéztek és összefoglalták a *cisz*-peptidkötéssel kapcsolatos tapasztalataikat. Benyhe Sándor (MTA SZBK) a már említett tríciummal jelölt nociceptinanalóg peptidok segítségével nagyszámú farmakológiai vizsgálatot végzett. Igazolták, hogy a békaagy tartalmaz nociceptinreceptort. Tompa Péter (MTA SZBK) kalpaininhibitor és -aktivátor peptidokat vizsgált. Megállapította, hogy míg a vizsgált peptidok csak gyenge inhibitorok, a Mucsi Zoltán (MTA Peptidkémiai Kutatócsoport) által előállított peptidok egy része erős aktivátor.

A konferencia utolsó szekcióját Letoha Tamás (SZTE Orvosi Vegytani Intézet) előadása nyitotta, aki négy penetratinanalóg peptid szintézisét, FITC-jelzését ismertette. A peptidok fluoreszcencia-mikroszkópiával bizonyíthatóan bejutnak a sejtekbe. Váradi Györgyi (SZTE Orvosi Vegytani Intézet) egy diszulfidhidat tartalmazó, 18 tagú peptid és analógjainak interleukin-5 antagonist hatását mérte immobilizált IL5-receptorral az IL5 lezorításával. Lengyel Imre (SZTE Orvosi Vegytani Intézet) β -amyloid peptidok G-fehérje-aktiváló hatását mérte. Megállapította, hogy míg a 25–35 és az 1–42 peptidok önmagukban csak gyenge aktivitással rendelkeznek, addig a két peptid keveréke extrém mértékben (10-szer inkább, mint önmagukban) aktiválja a G-fehérjét. Ez a hatás Zn^{2+} -ionokkal tovább fokozható. Datki Zsolt (SZTE Orvosi Vegytani Intézet) a β -amyloid neurotoxikus hatásának esetleges kivédhetőségét vizsgálta integrin-peptidekkel. Illyés Eszter (ELTE Szerveskémia Tanszék) a WSXWS peptidtar Tetrahymena sejtekre gyakorolt kemotaktikus hatásával kapcsolatos eredményeket összegezte, majd Szabó Rita (MTA Peptidkémiai Kutatócsoport) ismertette az elágazó láncú polilizin gerincű polimer polipeptidek (AXK, és XAK) hatását makrofág sejtekre.

A konferenciát Bajusz Sándor elnöki zárszava zárta. A szemesi találkozó hagyományosan a magyar peptidkutatók seregszemléje, ahol az előadásokon kívül lehetőség nyílik személyes találkozókra,

megbeszélésekre is. Egyedülálló lehetőség a fiatalabbak számára, hogy gyakorlati kérdésekben kikérhetik nagy tapasztalattal rendelkező kollégáik tanácsait. Sajnos az idei sűrű program miatt ezekre a beszélgetésekre csak nagyon szűkösen, a rövid kávészünetekben nyílt mód.



Az Alapítvány a Magyar Peptid- és Fehérjekutatásért kuratóriuma. Balról: Penke Botond, Kéri György, Perczel András, Magyar Anna, Hudecz Ferenc, Medzihradsky Kálmán és Bajusz Sándor.

Az egyik ebédszünetet használta ki az Alapítvány a Magyar Peptid- és Fehérjekutatásért kuratóriuma is, hogy megtartsa aktuális megbeszélését. Az alapítvány a hazánkban dolgozó peptidkutatók egyik fontos támogatója; kutatói ösztöndíjakat, konferenciárészvételi támogatásokat folyósít. Az alapítvány a szemesi találkozó egyik fő szponora.

Összefoglalásképpen elmondhatjuk, hogy az igen fesztett program bár nagyon fárasztó volt, egyben minden eddigi munkabizottsági ülésnél tartalmasabbnak is bizonyult. A sok előadás miatt a vitákra, megbeszélésekre jutó idő lecsökkent, azonban az előadások sokszínűsége és az esti kerekasztal-beszélgetések bőven kárpótolták a közel 100 résztvevőt.

A konferencia részletes programja, az előadásábrák egy része, valamint a helyszínen készült fotók megtalálhatók az interneten (<http://peptid.chem.elte.hu/szemes2002/>). Az esemény létrejöttét támogatóink nagymértékben segítették. A szervezők és résztvevők nevében ezúton is szeretném kifejezni köszönetünket az Alapítvány a Magyar Peptid- és Fehérjekutatásért szervezetének, valamint a Richter Gedeon Vegyészeti Gyár Rt.-nek.

Kóczán György



AKTIVIT



TERMÉKAJÁNLAT:

BIOANALITIKAI TERMÉKEK:

Készletek nukleinsav-tisztításhoz

NUCLEOBOND® oszlopok és készletek
anioncserélő technika alkalmazásával

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

NucleoSpin® termékcsalád nukleinsav-tisztításhoz
szilikagél 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

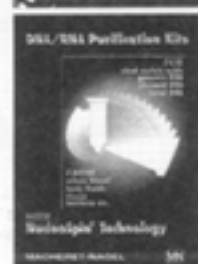
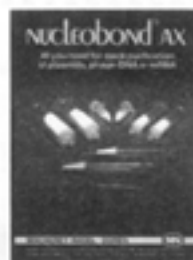
- CHROMAFIL® membránszűrők
- porablot® transzfer membránok
- Blotting papírok
- BIO-LAB-TOP

Mikrobiológiai gyorsesztek

- BioFix® tesztcsíkok mikrobiológiai vizsgálatokhoz
- Mikrobiológiai gyorsesztek higiénias vizsgálatokhoz

ALTALÁNOS LABORÁTORIUMI 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.

AME Bioscience

Visit - www.amebioscience.com

FOR SALE

DNA Sequencers

MegaBace 1000
ABI 377
ABI 310
ABI 3100
ABI 3700

DNA Synthesizers

ABI Expedites
ABI 3900
ABI 392
ABI 394

Peptide Synthesizers

ABI 433
ABI 431
ABI 430

Real Time PCR

ABI 5700
ABI 7700

PCR Instruments

ABI 9700
ABI 9600

Mass Specs

API 3000
API 365
Voyager STR (MALDI)



BIO-SCIENCE

1119 Budapest, Andor u. 47-49.

Telefon: 463-5077, 463-5069

E-mail: bio-sci@bio-science.hu

Fax: 463-5261

Internet: www.bio-science.hu

A Bio-Science Kft. őszi akciója

október 15-től december 15-ig



Labsystems
fluoriméter
vagy luminométer
vásárlása esetén egy
**ELISA readert adunk
ajándékba**

Hybaid PX2 PCR
készülék vásárlása esetén

- egy Electro-4 ELFO kádat adunk ajándékba
- vagy**
- a második blokkot 50% árengedménnyel vásárolhatja meg



Promega akció

„GREEN“ GoTaq DNA
Polymerase
bevezető ár:
45 Ft/unit

25% árengedmény

- Transcription/Translation System (TNT)
- M-MLV Reverse Transcriptase H Minus 2 500U

4 + 1

Finnpipetta akció

4 db egycsatornás
digitális pipetta
vásárlása esetén
az **ötödiket
ingyen adjuk**



Hermle Z100
típusú centrifuga
strip rotorral
65 000 Ft



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 hígítása**

- Állítható hígítási faktor és sebesség
- Automata adagoló kar
- 20 tárolható program
- Automatikus tárázás, 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

Moving forward in Molecular Biology



genomics