

BIOKÉMIA

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

Szerkesztőbizottság:

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

Felelős szerkesztő:

SZÉKÁCS ANDRÁS

XXVIII. ÉVF. 2. SZÁM

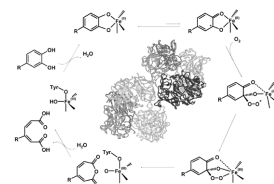
2004. JÚNIUS

A tartalomból:

- ◇ Szulfonált aromás vegyületek lebontásának molekuláris mechanizmusa – *Magony Mónika, Perei Katalin, Medzihradzky Fölkl Katalin, Kovács L. Kornél és Rákhely Gábor*
- ◇ Szénhidrogénnel szennyezett talajok bioremediációja – *Szoboszlay Sándor, Atzél Béla, Cserhádi Mátyás és Szabó István*
- ◇ Táplálkozásgenomika – egy új tudományág? – *Lásztity Radomír*
- ◇ Az Agilent Technologies Inc. génexpresszió-vizsgálati rendszere – *Andrásfalvy Márton*
- ◇ Hat év GM-vita – *Baintner Károly*

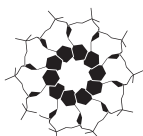
Címlapkép:

A protokatekol dioxigenáz enzim kristályszerkezete és a katalizált reakció mechanizmusa (ld. a vonatkozó közleményt a 26–36. oldalakon).



Contents:

- ◇ Molecular mechanism of the degradation of sulfonated aromatic compounds – *Mónika Magony, Katalin Perei, Katalin Medzihradzky Fölkl, Kornél L. Kovács and Gábor Rákhely*
- ◇ Bioremediation of hydrocarbon contaminated soils – *Sándor Szoboszlay, Béla Atzél, Mátyás Cserhádi and István Szabó*
- ◇ Nutritional genomics – a new scientific principle? – *Radomír Lásztity*
- ◇ Gene expression analysis system by Agilent Technologies, Inc. – *Márton Andrásfalvy*
- ◇ Six years of GM dispute – *Károly Baintner*



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

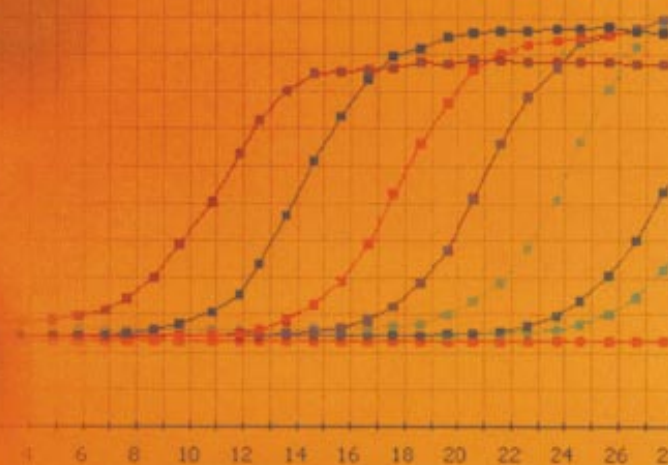
Az engedély száma: III/SZI/397/1977 HU ISSN 0133-8455

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

WEBio
BioScience Portal

Now available for
Capillary-Based PCR
Thermal Cyclers



FailSafe PCR Results in Real-Time!

FailSafe™ Real-Time PCR System

- Extends the unsurpassed **specificity, sensitivity, and consistency** of the FailSafe™ PCR System to quantitative PCR applications with a **broader dynamic range**.
- Like our standard FailSafe™ PCR System, this new real-time PCR kit ensures successful quantitative PCR the **first time and every time**.

What makes the FailSafe™ Real-Time PCR System "fail-safe"?

- **FailSafe PCR Enzyme Mix:** A unique blend of thermostable enzymes that is capable of amplifying the most difficult DNA templates with extremely high sensitivity and fidelity, with no extra "hot start" step.
- **A set of FailSafe PreMixes:** Include SYBR® Green I dye, dNTPs, buffer, and varying amounts of MgCl₂ and the FailSafe PCR Enhancer (with betaine).*



Circle 26 on Reader Service Card

* The use of betaine in DNA or RNA polymerase reactions is covered by patent rights exclusively licensed to EPICENTRE Technologies. EPICENTRE is a registered trademark, FailSafe is a trademark of EPICENTRE Technologies. SYBR is a registered trademark of Molecular Probes, Inc. SYBR® Green I Dye is covered by patents.



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

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

Szulfonált aromás vegyületek lebontásának molekuláris mechanizmusa

Molecular mechanism of the degradation of sulfonated aromatic compounds

Magony Mónika¹, Perei Katalin¹,
Medzihradzsky Fölkl Katalin^{3,4},
Kovács L. Kornél^{1,2}, Rákhely Gábor¹

¹ Szegedi Tudományegyetem Biotechnológiai Tanszék, Szeged

² MTA Szegedi Biológiai Központ, Biofizikai Intézet, Szeged

³ MTA Szegedi Biológiai Központ, Tömegspektrometriai Laboratórium, Szeged

⁴ University of California San Francisco, Department of Pharmaceutical Chemistry

Összefoglalás

Izoláltunk egy szulfanilsavat egyedüli szén-, nitrogén- és kénforrásként használó baktériumot, mely taxonómiai vizsgálatok alapján *Sphingomonas subarctica* fajba tartozónak bizonyult. A törzs tartalmazza a szulfanilsavlebontáshoz szükséges teljes enzimmérszletet, s további 6 aromás vegyület és olajos szennyeződések lebontására képes. Az aromás vegyületek aerob degradációjában katekolszárma-zékok képződését katalizáló hidroxilázok, illetve gyűrűt hasító dioxigenázok vesznek részt. Legalább kétféle, szubsztrátspecifitásban eltérő proto-katekolbontó dioxigenáz van jelen a *Sphingomonas subarctica* sejtben. A szulfokatekol dioxigenáz enzimet részlegesen tisztítottuk, szekvenciáját meghatároztuk. Ennek alapján izoláltunk egy genom-ális régiót, melyben olyan géneket azonosítottunk, amelyek feltételezhetően a szulfanilsav lebontásban szerepet játszó enzimeket kódolnak: szulfomukonát cikloizomeráz (SMC), szulfolakton hidroláz (SLH), oxidoreduktáz, szulfokatekol dioxigenáz (SCD), permeáz. A lebontási út három enzimét (SCD, SMC és SLH) *Escherichia coli* szervezetben túltermeltettük, a tisztított rekombináns enzimekkel modelleztük a szulfanilsav lebontásának mechanizmusát a második lépéstől a TCA-ciklusig. Végül proteomikai megközelítést alkalmazva sikerült azonosítani a szulfanilsav hidroxilálását katalizáló kulcsenzim génjeit is.

Magony, M.¹, Perei, K.¹, Medzihradzsky Fölkl, K.^{3,4}, Kovács, K. L.^{1,2}, Rákhely, G.¹

¹ Szeged University, Department of Biotechnology, Szeged

² Biological Research Center, Hungarian Academy of Sciences, Institute of Biophysics, Szeged

³ Biological Research Center, Hungarian Academy of Sciences, Mass Spectrometry Laboratory, Szeged

⁴ University of California San Francisco, Department of Pharmaceutical Chemistry

Summary

A bacterium growing on sulfanilic acid as sole carbon, nitrogen and sulfur source was isolated and identified as *Sphingomonas subarctica*. This strain contains all enzymes necessary for the biodegradation of sulfanilic acid, and it could decompose six aromatic analogues and oil contaminations. Generally, two types of dioxygenases participate in the aerobic decomposition of aromatic compounds: hydroxylases catalyzing the production of a catechol intermediate and ring-cleaving dioxygenases. Our isolate has at least two types of protocatechol dioxygenases with different substrate specificity. The sulfocatechol dioxygenase enzyme was partially purified and sequenced. Based on this, we isolated a genomic region containing genes assumedly encoding enzymes involved in sulfanilic acid degradation: sulfomuconate cycloisomerase (SMC), sulfolactone hydrolase (SLH), oxidoreductase, sulfocatechol dioxygenase (SCD), permease. The degradation pathway was reconstituted by the recombinant SCD, SMC and SLH enzymes overexpressed in *Escherichia coli*. The genes of the enzyme catalyzing the hydroxylation of sulfanilic acid were identified based on a proteomics approach.

Bevezetés

A gyógyszer- és vegyipari termelés ugrásszerűen megnőtt az utóbbi évtizedekben. Ennek káros mellékhatásaként nagy mennyiségű szintetikus vegyszer került környezetünkbe. Ilyen mesterséges molekula, xenobiotikum a szulfanilsav is (1. ábra) [1,2]. A szulfanilsav szintetikus vegyület, az anilin közvetlen szulfonálásával nyerhető. A szulfonálás *meta* és *orto* helyzetben is bekövetkezhet, termékeként metanilsav és ortanilsav keletkezik, ez utóbbit 3-szulfokatekolon keresztül az *Alcaligenes sp.* O-1 törzs képes továbbalakítani [3]. A szulfanilsav gyakorlati jelentősége igen nagy, azofestékek, növényvédő szerek előállításához, nagy mennyiségben használják [1,2], komoly szereppel bírnak a gyógyászatban alkalmazott származékai, a szulfonamid-készítmények. A szulfonamidok (pl. a szulfanilamid, a szulfanilsav amidja) erős bakteriosztatikus hatást mutatnak. Bénítják a mikroorganizmusok nukleotidszintézisét úgy, hogy a folsav-bioszintézis során szükséges *p*-amino-benzoésavat (PABA) (1. ábra) kiszorítják az enzim komplexéből, és így módon kompetitív módon gátolják a reakciót [3]. Maga a szulfanilsav fiziológiás pH-értéken teljesen disszociál, igen erős negatív töltésű molekula, ami megnehezíti a vegyület sejtekbe való bejutását, illetve biológiai lebontását [4].

A balatonfűzfői Nitrokémia Rt. gyártási folyamataiban keletkezett elfolyó szennyvíz viszonylag

nagy mennyiségű szulfanilsavszenyeződést tartalmazott. Ennek a vegyületnek a hatástalanítására dolgoztunk ki korábban a gyárral közösen egy biotechnológiai módszert [5]. Sikeresen izoláltunk egy olyan baktériumtörzset, amely egyedülálló módon képes volt a szulfanilsavat mint egyedüli szén-, kén-, nitrogén- és energiaforrást hasznosítani. A törzs meghatározása korábban ellentmondásos volt. Célul tűztük ki a törzs pontos taxonómiai besorolását, biodegradációs kapacitásának jellemzését, a lebontási folyamatok részletes biokémiai és molekuláris biológiai megismerését.

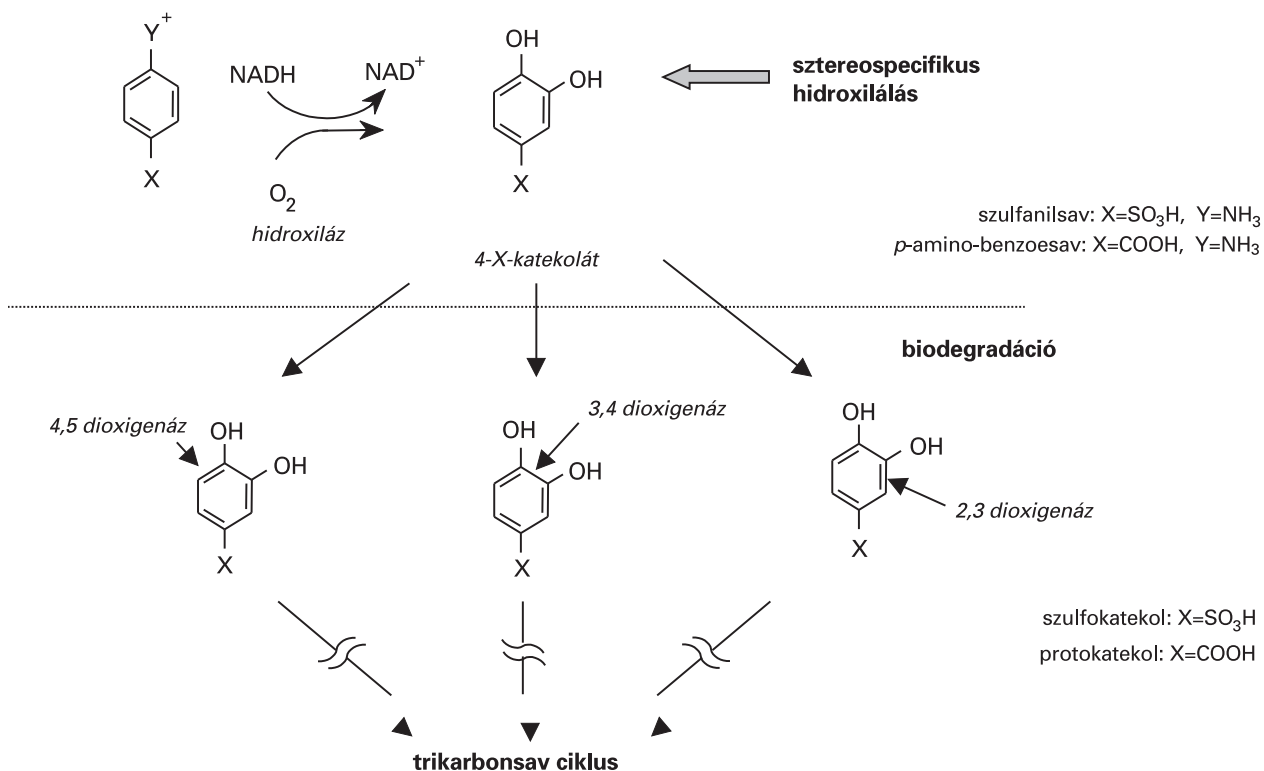
A dioxigenáz és hidroláz enzimek szerepe az aromás vegyületek lebontásában

A toxikus, aromás vegyületek teljes mértékű lebontását, e vegyületek mérgező volta ellenére, mikrobiológiai úton is meg lehet valósítani. A környezeti feltételektől függően a lebontás végbemehet anaerob, illetve aerob módon is. Általában az utóbbi folyamat egyrészt hatékonyabb, másrészt jobban ismert [6]. Különböző anyagok lebontására a baktériumok átfogó stratégiákat fejlesztettek ki: aerob környezetben a legtöbb vegyületet valamilyen *orto* pozícióban hidroxilált vegyületté, katekolszármazékká (1. ábra), míg anaerob körülmények között benzoil-CoA-vá alakítják. Ezeket a központi intermediereket pedig – a vegyület jellegétől és a sejtől függően – néhány alternatív lebontási útvonalon

A Szegedi Tudományegyetem TTK Biotechnológia Tanszékén mintegy 3-4 éve alakult meg az a molekuláris biotechnológiai munkacsoport, amely a környezetre ártalmas anyagok lebontási útvonalainak molekuláris mechanizmusát kutatja. Munkánk során olyan új mikróbakat izolálunk, amelyek képesek speciális vegyületek lebontására, majd ezen metabolikus utak génjeit, enzimeit jellemezzük. A metabolikus útvonalak térképezéséhez genetikai, biokémiai, funkcionális genomikai, proteomikai megközelítéseket alkalmazunk. A proteomikai megközelítést a Szegedi Biológiai Központ Tömegspektrometriai Laboratóriumával szoros együttműködésben végezzük. Az izolált gének, enzimek lehetőséget nyújtanak speciális enzimek, új metabolikus utak tervezéséhez, amelyek mind a környezetvédelemben, mind a szintetikus biokémiában egyaránt használhatók. A csoportképen látható szűzök a Szegedi Tudományegyetem Biotechnológiai Tanszék



munkatársai (balról jobbra): **Magony Mónika** 3. éves biológus PhD-hallgató. Diploma és PhD-témája környezetre ártalmas aromás vegyületek lebontási mechanizmusainak molekuláris jellemzése. **Rákhely Gábor** vegyész-biológus egyetemi docens, a téma vezetője. **Kovács L. Kornél** biológus, SZTE TTK Biotechnológiai Tanszék, tanszékvezető egyetemi tanár. **Perei Katalin** biológus, tudományos munkatárs. **Medzihradzky Fülkl Katalin** (balra lent) vegyész, tudományos főmunkatárs, csoportvezető, MTA Szegedi Biológiai Központ, Tömegspektrometriai Laboratórium, Associate Adjunct Professor, University of California San Francisco, Department of Pharmaceutical Chemistry.



1. ábra Monoaromás vegyületek oxidációja hidroxiláz és dioxigenáz típusú enzimekkel.

keresztül metabolizálják. Mi a továbbiakban csak az aerob lebontással foglalkozunk.

A bakteriális lebontás első lépése az anyag felvétele a sejtbe (kivéve az extracelluláris lebontásokat). A molekula sajátágaiból adódóan a szulfonált aromás vegyületek felvétele spontán úton nem megy végbe, hanem valamilyen speciális aktív transzport-mechanizmussal, feltételezhetően egy ABC-transzporterrel történik a baktériummembránon át [4,7,8]. A felvétel folyamata energiát igényel.

A sejtben az első lépés általában a gyűrű hidroxilálása (kivéve, ha ezek adóttak). Az irodalmi adatok alapján a szulfanilsav esetében is hasonló folyamatot feltételezünk, amely során 4-szulfokatekol keletkezik [1,9]. A hidroxiláz enzim (másként gyűrű-hidroxiláló dioxigenáz) oxigént használva két hidroxilcsoportot épít a gyűrűre egymáshoz képest *orto* helyzetben [6], a reakció eredményeképpen egy katekolszármazék keletkezik. A szulfanilsav-lebontásban részt vevő hidroxiláz olyan kulcsenzim, amelyet a mai napig nem sikerült jellemezni sehol a világon. Az ilyen enzimet gyógyszeripari szempontból hasznos lehet megismerni, hiszen – szulfonált vegyületeket *orto* helyzetben hidroxiláló

enzim lévén – lehetővé teheti speciális, *orto*-hidroxilált vegyületek szintézisét.

A keletkező katekolszármazék (itt szulfokatekol) további bontását ún. gyűrűhasító dioxigenáz enzim katalizálja, amely szintén a légköri oxigént használja. A gyűrű hasítása bekövetkezhet a két hidroxilcsoport mellett (extradiol) vagy a két hidroxilcsoport között (intradiol) is (1. ábra) [6]. Ennek megfelelően több alternatív metabolikus útvonal létezik, de a folyamat mindegyik esetben végül a citrát ciklusba torkollik.

Knackmauss és csoportja a szulfanilsav lebontásában elért eredményeiről először 1988-ban számolt be [1]. Tanulmányukban két baktériumtörzs keverékkultúráját mutatták be. A *Hydrogenophaga intermedia* a szulfanilsavat 4-szulfokatekollá tudja alakítani, amely vegyületet az *Agrobacterium radiobacter* használja a továbbiakban [9]. Ez utóbbi baktérium enzimrendszere segítségével a 4-szulfokatekolt több lépésen keresztül maleil-acetáttá alakítja. Tehát a baktériumkonzorcium csak külön tartalmazza a teljes lebontáshoz szükséges enzimek készletét (2. ábra). A mai napig csupán egy I-es típusú protokatekol-3,4-dioxigenázt és egy II-es típusú pro-

tokatekol-3,4-dioxigenázt jellemeztek a szulfanilsav metabolizálására képes konzorcium egyik tagjából, *Agrobacterium radiobacter* törzsből [10,11]. Az I-es típusú dioxigenáz csak protokatekolat képes bontani, míg a II-es típusú a protokatekolon kívül 4-szulfokatekolt, a szulfanilsav lebontásának első intermedierjét is. A II-es típusú protokatekol dioxigenáz a világon az egyetlen azonosított enzim, mely képes 4-szulfokatekolt bontani. Sőt, a szulfanilsav lebontási útvonalában eddig ez volt az egyetlen azonosított és jellemzett enzim. Azofestékek szulfanilsav komponensének bontását szintén vegyes mikrobiális kultúrával valósította meg egy amerikai és egy holland csoport [12–14], azonban a lebontás molekuláris mechanizmusáról nem számoltak be.

2. ábra (lásd a címlapon) *A protokatekol dioxigenáz enzim kristályszerkezete és a katalizált reakció mechanizmusa.*

Eredmények

Szubsztrátspecifitás

A szulfanilsavgyár területéről izolált baktérium [5] 16S rDNS génjének szekvenálása, illetve részletes DSMZ törzsmeghatározása után *Sphingomonas subarctica* fajúnak bizonyult. A *Sphingomonas* genusba tartozó mikroorganizmusok gyakran vesznek részt aromás vegyületek eliminálásában [15]. Egyedülálló tulajdonsága a törzsnek, hogy magányos baktériumként képes a szulfanilsavat mint egyedüli szénforrást hasznosítani az anyagcsere-folyamataihoz.

Az irodalomban a 16S rDNS gén alapján leghasonlóbb *Sphingomonas subarctica* NKF1 törzset tri- és pentaklór-fenol-bontó törzsként jellemezték [16,17], *Sphingomonas*-fajokban a poliklórozott aromás vegyületek lebontásáért felelős enzimek génjeit még evolúciós analízisekre is használják [18]. A saját izolátumunkat összehasonlítottuk a *Sp. subarctica* NKF1 törzssel, és megállapítottuk, hogy a két törzs biodegradációs profilja eltér [19]: a mi törzsünk nem tudta bontani a klórozott fenolokat, míg az NKF1 törzs nem bontja a szulfanilsavat. Ezért a törzsünk egyéni neve: *Sphingomonas subarctica* SA1.

A *Sphingomonas subarctica* SA1 a szulfanilsavon kívül 6 aromás vegyület lebontására képes. Közöttük található amino- és szulfocsoporttartalmú ve-

gyület is, melyeknek a kén- és nitrogéntartalmát a sejt felhasználja az élettani folyamataihoz, a felesleget pedig a külső tápközegbe bocsátja ki. A szulfanilsavon kívül a 4-szulfokatekolt, a *p*-amino-benzooesavat, a protokatekolt, a 4-hidroxi-benzooesavat, a ftálsavat és a 3,5-dihidroxi-benzooesavat is fel tudja használni és biomasszává alakítani (1. ábra). Továbbá más talajlakó baktériumokkal (pl. *Pseudomonas*, *Rhodococcus*) konzorciumban képes olajos szennyeződések eliminálására is. Izolátumunk összességében igen széles körben alkalmas toxikus, környezetidegen vegyületek eltávolítására.

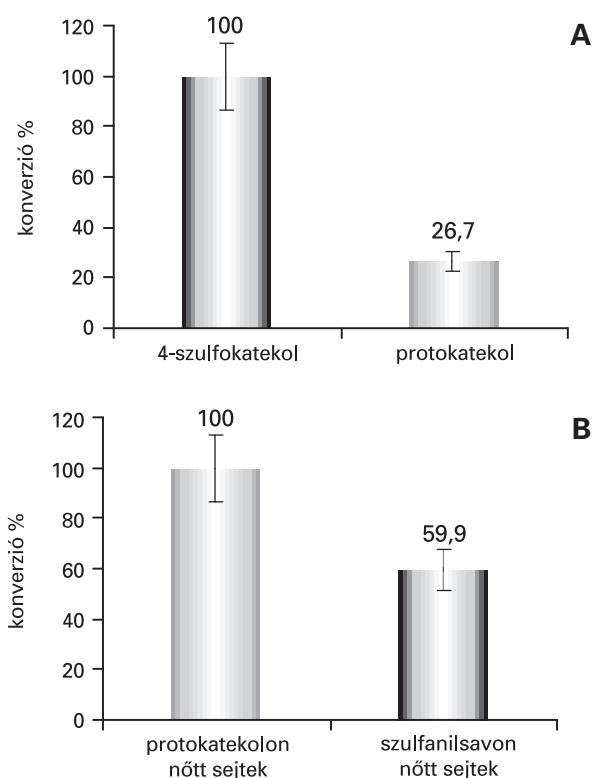
A szulfanilsavbontás többlépcsős katalitikus folyamat. Az a megfigyelés, hogy a sejt képes szulfokatekolt bontani, arra enged következtetni, hogy a szulfanilsav átalakítása szulfokatekol intermedieren megy keresztül.

1. katalitikus lépés. A szulfanilsav konverziója

A szulfanilsav biodegradációja során feltételezzük, hogy az első lépés a gyűrű hidroxilálása, ami az aminocsoport eltávolításával jár. Szulfanilsavbontó aktivitást csak egész sejtekkel tudtunk kimutatni, a sejtek feltárását követően nem lehet ilyen aktivitást detektálni [20]. Eredményeink alapján arra következtettünk, hogy a feltárás során az első katalitikus lépés sérül, ugyanis az első potenciális, közti termék, a szulfokatekol fogyása már mérhető feltárt sejtekkel is.

2. lépés. A szulfokatekol oxidációja

A lebontási út második enzimének a 4-szulfokatekol dioxigenáznak az aktivitását a citoplazmatikus frakcióban tudtuk követni. A szulfanilsavon vagy szulfokatekolon növesztett sejtek szolubilis frakciójának fehérjemintázata nagyon hasonlít egymáshoz, ami megerősítette azt a munkahipotézisünket, hogy a szulfanilsavból szulfokatekol képződik. A szulfanilsavon növesztett sejtek citoplazmatikus frakciójában 4-szulfokatekol- és protokatekolbontó aktivitás egyaránt mérhető volt, ami arra utalt, hogy egy II-es típusú protokatekolbontó dioxigenáz expressziója indukálódott. A II-es típusú enzim egységnyi idő alatt kb. négyszer annyi mennyiségű 4-szulfokatekolt bontott el, mint protokatekolt (3. ábra). Az enzimet, amely szulfokatekolra specifikus szubsztrátkötő zsebbel rendelkezik, a továbbiakban szulfokatekol dioxigenáznak (SCD) nevezzük. Érdekes megjegyezni, hogy Stolz



3. ábra Szulfo- és protokatekolbontás szulfanilsavon illetve p-amino-benzoésavon növesztett sejtekkel. **A:** Szulfo- és protokatekol-bontás SCD enzimmel. A sejteket szulfanilsavon növesztettük és a relatív szulfo- és protokatekolbontó aktivitást hasonlítottuk össze. **B:** Protokatekolbontó aktivitás. A kétféle módon felnevelt sejtek relatív protokatekolbontó aktivitása.

és mtsai [21] vizsgálatai alapján a *H. intermedia* protokatekol dioxigenázban néhány aminosavcsere elegendő volt ahhoz, hogy megváltozzon az enzim szubsztrátspecifitása, így pl. szulfokatekolt is elfogadjon szubsztrátként.

Amennyiben a 4-szulfokatekol oxidációját egy II-es típusú dioxigenáz katalizálja, úgy a folyamatban valószínűleg szulfomukonát keletkezik, mely vegyületet spektrofotometriásan azonosítottuk is (lásd később). Ezt a közti terméket más lebontási utak alapján egy cikloizomeráz enzim alakítja tovább valamilyen laktonná. Ilyen enzimet vagy az enzim génjét eddig még nem írtak le. Szulfanilsavon növesztett sejtek szolubilis frakciója képes ezt a szulfomukonátot tovább bontani.

Átfedés a szulfanilsav/szulfokatekol és a protokatekol metabolikus útjai között

Protokatekolon növesztett körülmények közt elsősorban protokatekolbontó aktivitást tudtunk ki-

mutatni, ami azt jelzi, hogy ezen körülmények közt csak az I-es típusú enzim termelődik, amit a továbbiakban protokatekol dioxigenáznak (PCD) nevezünk. Ha protokatekolon növesztett sejteknél protokatekolbontó aktivitást mérünk, azt tapasztaljuk, hogy a PCD enzim hatására protokatekolból karboximukonát keletkezik, amelyet ebben az esetben a karboximukonát cikloizomeráz alakít tovább. Bár a szulfanilsavon növesztett sejtek szolubilis frakciója rendelkezik protokatekolbontó aktivitással (3. ábra), vizsgálataink szerint a keletkező karboximukonátot a lebontási útvonal következő enzime, a szulfomukonát cikloizomeráz már nem tudja továbbalakítani. Ebből arra következtettünk, hogy ez az enzim – amely szulfanilsav hatására expresszáldik – a szulfomukonátra mint szubsztrátra specifikus. Eredményeink arra is bizonyítékul szolgálnak, hogy legalább két különböző lebontási út enzimeit tartalmazza a baktérium [20]. Az enzimek a katekolszármazékok oxidációjában tágabb szubsztrátspecifitással bírnak, a következő lépésben viszont szétválik a két lebontási út, és a szubsztrátokra specializálódott enzimek katalizálják a további reakciókat.

A 4-szulfokatekolbontó enzim tisztítása, szekvenálása és génjének azonosítása

Mivel az első lépést katalizáló enzim vizsgálata a fent említett technikai korlátokba ütközött, ezért a lebontás következő lépésére koncentráltunk. Az SCD enzimet tisztítottuk: első lépésként egy ammónium-szulfátos kicsapást alkalmaztunk, az aktivitás zöme a 20 és 30% (m/m) közötti frakcióban koncentráltódott. Ezt követően FPLC módszerrel Q-Sepharose oszlopon tisztítottuk tovább a fehérjét. Az aktív frakciót natív poliakrilamid gélen futattuk, melyen egyetlen erős csík jelent meg, ami enzimaktivással is rendelkezett. Ezt a sávot kivágtuk a gélből, és a mintát denaturáló poliakrilamid gélen futtattuk. A megfelelő méretű sávokat (27 és 21 kD) kivágtuk, szekvenciájukat tömegspektrometriásan *de novo* meghatároztuk. Az intradiolhasító dioxigenázok között vannak homomultimerek és heteromultimerek [22], tehát ez az enzim az utóbbi csoportba tartozik. A két alegység mérete az irodalmi értékekkel összhangban volt. A várt eredménnyel ellentétben az alegységek nem az ismert szulfokatekol dioxigenáz (*Agrobacterium radiobacter* fajtából) alegységeivel mutatta a legnagyobb homo-



Fermentáció



Membrán-adszorpció elvén működő fehérje tisztítás/ elválasztás



Bioszeparáció
ipari méretekben

Vákuum-, gőz/levegő-
és forró vizes sterilizáló
berendezések és rendszerek,
gyógyszeripari alkalmazásra



Nagy tisztaságú víz-, gőz,
és WFI előállító
berendezések, rendszerek

VÍZANALITIKA

WTW

* mobil
* laboratóriumi és
* on-line
kivitelben

PARAMÉTEREK

* pH
* redox potenciál
* ionszelektív mérések
* oldott oxigén
* vezetőképesség
* hőmérséklet
* zavarosság
* BCl, KCl
* NH₄, NO₃, NO₂
* PO₄, P_{TOT}, TOC, SAC
* automata
vízmintavevők

* TÜV
* ISO
* GLP
* 3 év garancia



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

PROFESSZIONÁLIS MÉRÉSTECHNIKA

SZÜRŐPAPÍROK MEMBRÁNSZÜRŐK SZÜRŐKARTONOK

A tradicionális minőség megújult csomagolása
meghívhatóságot garanzál!



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

GYORSTESZTEK



QUANTOFIX VISOCOLOR

UNIVERSÁL ÖVÖSTEST VIZUÁLIS TESZTKÉSZLETEK
INDIKÁTOR- ÉS TESZTPAPÍROK 0,01 - 100 mg/l

1 - 1000 mg/l



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

FOTOMETRIÁS TESZTKÉSZLETEK
0,001 - 1000 mg/l
MACHERY-NAGEL (MN)

PROFESSZIONÁLIS MÉRÉSTECHNIKA ELÉRHETŐ ÁRON

Chromatography

Bioanalysis

Fast Chromatography Sample Preparation
GC / HPLC Gas Chromatography

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

KÖRNYEZETVÉDELMI MÉRÉSTECHNIKA



AKTIVIT Kft.

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



VÍZANALITIKA LABORTECHNIKA

KVALITATÍV TESZTPAPÍROK

pH - PAPIROK

STANTENITÍV TESZTPAPÍROK

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

MACHERY-NAGEL - DÜREN (MN)

Az ELEMENTAR GmbH.

VARIO elemanalizátor családja

- vario EL III
20, 40, 60, 80 g/műh
100 g/műh kapacitás
100 g/műh kapacitás
100 g/műh kapacitás

- vario EL TRACE
2 g/műh kapacitás
2 g/műh kapacitás

- vario EL liquid injection
20, 40, 60, 80 g/műh kapacitás
20, 40, 60, 80 g/műh kapacitás
20, 40, 60, 80 g/műh kapacitás

- vario trace liquid injection
2 g/műh kapacitás
2 g/műh kapacitás

ELEMENALIZIS FELSOROKON

- vario EL IRMS
20, 40, 60, 80 g/műh kapacitás
20, 40, 60, 80 g/műh kapacitás

- vario MAX
20, 40, 60, 80 g/műh kapacitás
20, 40, 60, 80 g/műh kapacitás

- vario MAX IRMS
20, 40, 60, 80 g/műh kapacitás
20, 40, 60, 80 g/műh kapacitás

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

NITROGÉN / PROTEIN tartalom mérése

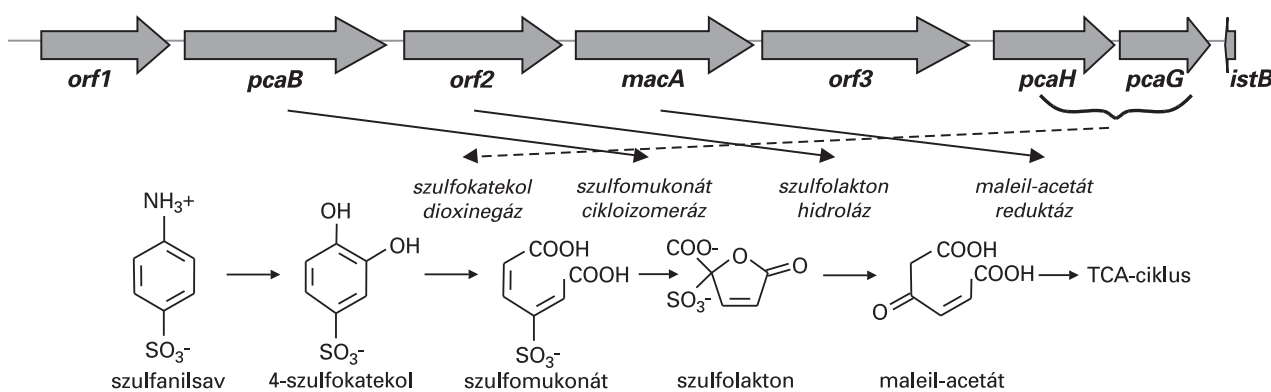
Dumas módszer szerinti egyetemes,
automata analízátorokkal

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

MEGBIZHATÓ EREDMÉNYEK A TEREPEEN CSÜCSMINŐSÉGŰ ESZKÖZKEL

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

Gén	Hossz (aa)	Funkció	Homológia (%)
<i>orf1</i>	259	hipotetikus konzervált membránprotein	45
<i>pcaB</i>	~ 450	3-karboxi- <i>cisz</i> , <i>cisz</i> -mukonát cikloizomeráz	40–45
<i>orf2</i>	319	feltételezett hidroláz	40
<i>macA</i>	359	maleil-acetát reduktáz	45–55
<i>orf3</i>	395	feltételezett oxidáz, dehidrogenáz NAD-kötő domén	40–45
<i>pcaH</i>	245	protokatekol-3,4 dioxigenáz β alegység	80, 67, < 60
<i>pcaG</i>	195	protokatekol-3,4 dioxigenáz α alegység	64, 61
<i>istB</i>	19	IS21 transzpozáz, C-terminális	100



4. ábra A szulfokatekol dioxenáz génjei és ezek genomális környezete.

lógiaát, hanem az *Agrobacterium tumefaciens* fajban található enzimmel.

A β -alegység szekvenciáját szinte 100%-ban megkaptuk, így degenerált primereket terveztünk rá. Ezeket felhasználva sikerült homológ DNS-próbat előállítani, melynek segítségével egy 7404 bp méretű genomális fragmenst izoláltunk. A szulfokatekol dioxigenáz génje mellett még más – a lebontásban feltételezhetően szerepet játszó – géneket és nyitott leolvasási kereteket (*orf*) is azonosítottunk (4. ábra) [23]. A folyamat leírásához ismert lebontási utakkal kerestünk analógiát. A proteomikai megközelítésből adódott, hogy a szulfokatekol oxidációjáért felelős enzim funkcióját maga a megközelítési mód igazolta. A többi komponens funkcionális kapcsoltsága a genomi kontextusból, a gének genomi szerveződéséből és ebből feltételezhető funkcionális kapcsolatából vezethető le. Ennek megfelelően a következő, reciklizációs lépést a mukonát cikloizomerázzal homológiát mutató gén terméke katalizálja (szulfomukonát cikloizomeráz), majd egy hidrolázokkal hasonlóságot mutató gén fehér-

jeterméke végzi feltehetőleg a laktonszarmazék továbbalakítását és ezzel együtt a deszulfonálási lépést is (szulfolakton-hidroláz). Az izolált genomális fragmenszen a felsorolt géneken kívül még találtunk egy hipotetikus permeázokhoz hasonló ORF1-gént (amelynek feltételezéseink szerint a szulfanilsav felvételében lehet szerepe), egy oxidoreduktáz típusú gént (melyhez nem tudtunk konkrét funkciót rendelni), s végül egy transzpozáz géndarab zárta a fragmenst. Szakirodalmi adatok azt mutatják, hogy gyakran előfordul, hogy két transzpozáz enzimet kódoló génszakasz közé ékelődik valamilyen aromás lebontásért felelős operon [24]. Fehérje-túltermelő konstrukciókat készítettünk pGEX4-t3 vektorban (GST fúziós konstrukciók) [23], a rekombináns enzimekkel kívántuk modellezni a lebontási utat.

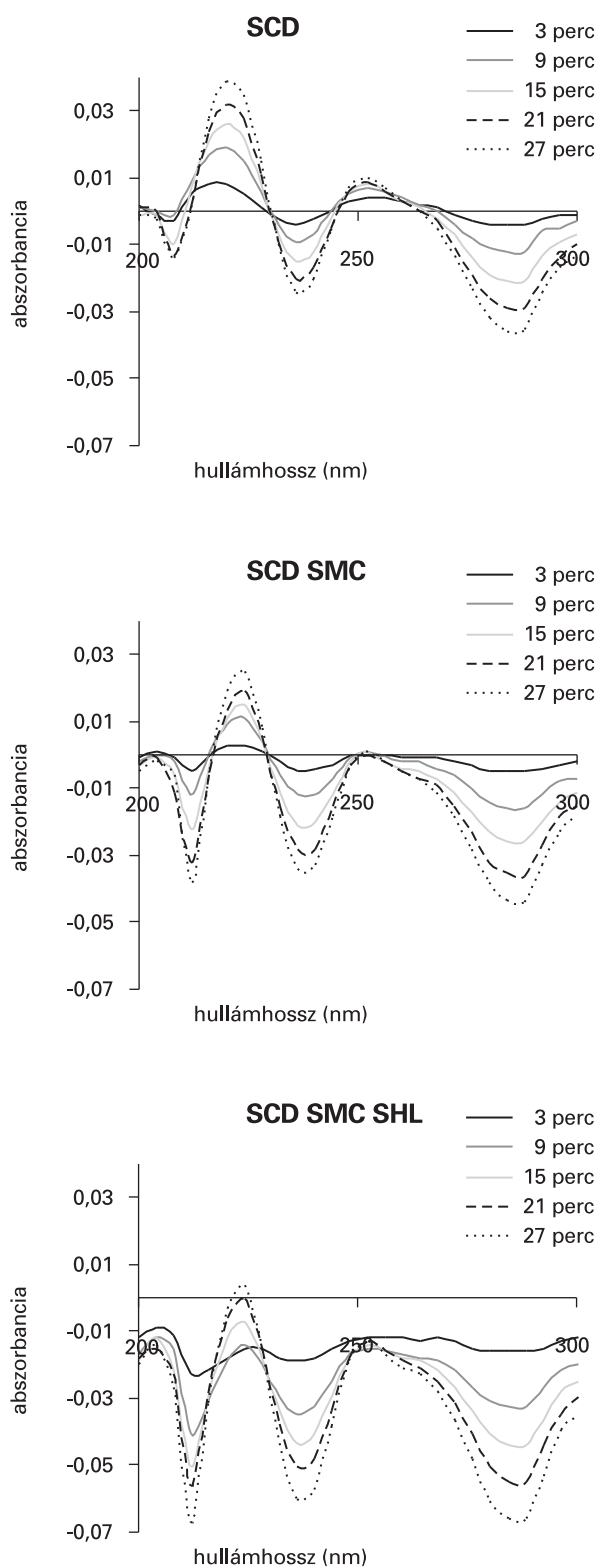
Enzimaktivitás-mérések rekombináns enzimekkel

A gének genomi elrendeződésén és a géntermékek szekvenciahasonlóságán alapuló munkahipotézisünk szerint megtaláltuk azokat a géneket, ame-

lyek a szulfokatekol maleil-acetáttá való átalakítását katalizáló enzimeket kódolják. Ezt azonban kísérletesen is igazolni kellett. Ezért négy túltermelő konstrukciót készítettünk, amelyek segítségével rekombináns szulfokatekol dioxigenázt (SCD), szulfomukonát cikloizomerázt (SMC), illetve szulfolakton hidrolázt (SLH) termeltettünk *Escherichia coli*-ban. Ezek a konstrukciók úgy készültek, hogy a termeltetendő fehérjéket glutation-S-transzferázzal fúzionálva expresszáztattuk. Ez nagyban megkönnyítette a fúziós fehérjék tisztítását. A szulfolakton hidroláz enzim termeltetéséhez két konstrukció készült, egy normál és egy rövidített változat, ugyanis a protein feltételezett ATG startkodonjától mintegy 50 bp távolságra ki tudtunk jelölni egy másik startkodont (GTG), illetve ehhez tartozó korrektebb riboszómakötő helyet. A fuzionált SCD és SMC a túltermelés során oldatban maradtak, ugyanakkor a hosszabb SLH nem volt oldékony, míg a rövidebb változat igen. A későbbiek során ezzel a csonka verzióval dolgoztunk tovább, a normál fehérje oldatba vitelével nem foglalkoztunk. A fúziós fehérje tisztítását glutation-Sepharose oszlopon végeztük: a megkötődött fehérjéket nem redukált glutationnal eluáltuk, hanem specifikus proteáz, trombin segítségével a GST-részt lehasítottuk, és így a GST nélküli tiszta – lényegében natív – fehérjékkel mérhettünk aktivitásokat.

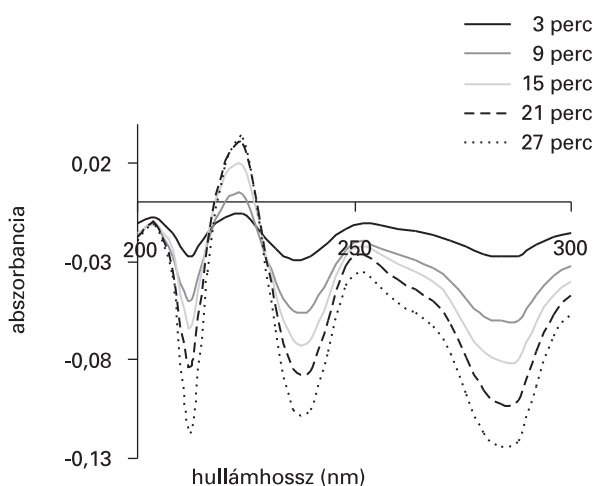
A szulfokatekol dioxigenáz működése során két új csúcs jelent meg (5. ábra), melyek a keletkező szulfomukonát specifikus csúcsainak felelnek meg (224 és 252 nm hullámhosszoknál), a többi negatív csúcs megfeleltethető a szulfokatekol csúcsainak. A szulfomukonáthoz rendelt csúcsok magassága csökkent, ha a reakcióelegyhez hozzáadtuk a reciklizálást végző szulfomukonát cikloizomeráz enzimet. A reakció során keletkező laktonszármazék fogyasztását más szerzők 220 nm környékén mérik [25], esetünkben is csökkenést mutatott ez a csúcs, ha a harmadik rekombináns csonkított szulfolakton hidrolázt a reakcióhoz adtuk. Ezzel sikerült bizonyítani, hogy a megfelelő géntermékek a szulfokatekol lebontásának egymást követő reakciólépéseit katalizálják [23].

Minthogy a szulfanilsavon növesztett sejtek szolubilis frakciójához (6. ábra) hasonló aktivitást sikerült demonstrálnunk rekombináns enzimekkel, méréseinkkel igazoltuk, hogy a hipotetikus lebontási út közti termékei valóban megjelennek és fel-



5. ábra A szulfokatekol lebontásának modellezése rekombináns enzimekkel. Különbégi spektrumok: a t időpontban kapott spektrumból kivontuk a t_0 időpontban felvett spektrumot. Az SCD, SMC, SLH a hozzáadott enzimfehérjéket jelentik, SM: szulfomukonát, SC: szulfokatekol.

halmozódnak, s ezek segítségével igazoltuk a metabolitokat bontó enzimek aktivitását.



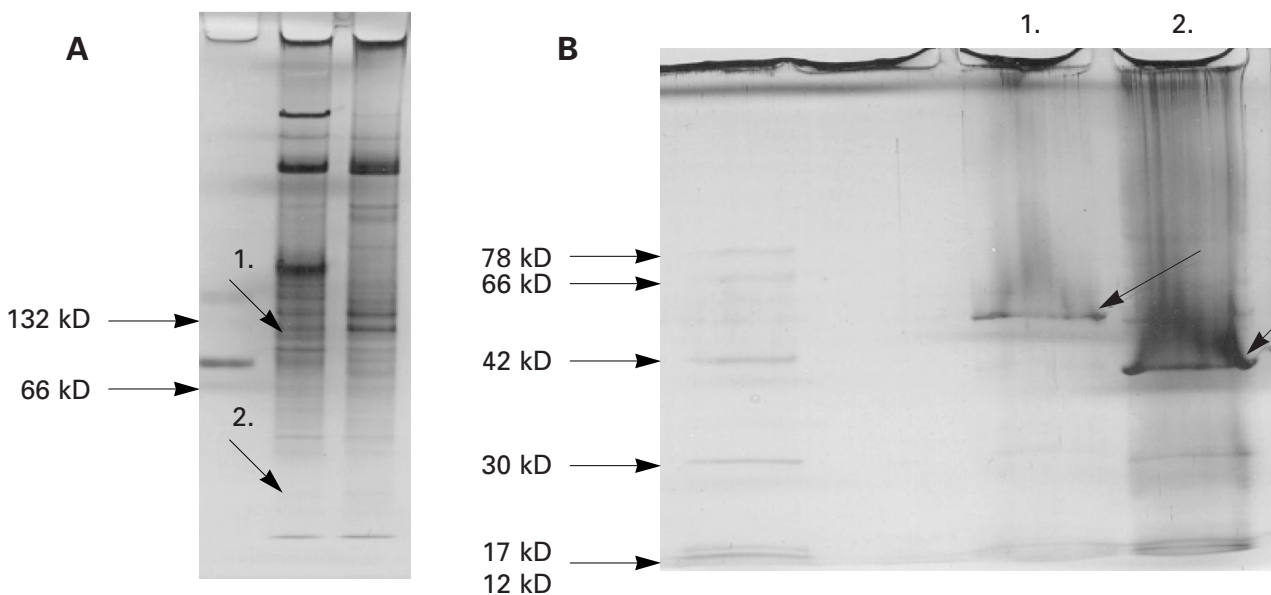
6. ábra Szulfokatekol bontásának spektrofotometriás jellemzése. Különbbségi spektrumok: a mérést szulfanilsavon növesztett *S. subarctica* SA1 citoplazmatikus frakciójával végeztük el.

A kulcsenzim, a lebontás első enzime

A szulfanilsav lebontása során az első enzim a feltárási eljárásban elveszti aktivitását. Aktivitás alapján a fehérjét nem tudjuk követni, valamilyen más módszert kellett alkalmazni a kulcsenzim megkeresésére. Mivel még nem dolgoztunk ki a *Sphingo-*

monas subarctica törzsre hatékony génátviteli módszert, ezért proteomikai megközelítést alkalmaztunk a fehérje azonosítására. Összehasonlítottuk indukciós körülmények közt (szulfanilsavon) és gazdag táptalajon nőtt sejtek membrán- és szolubilis fehérjemintázatát natív gélen.

A szolubilis frakció proteinmintázatában találtunk két olyan sávot, amelyek csak indukciós körülmények esetén jelentek meg. Az egyik sáv egy nagy fehérjekomplexnek tűnt (7. ábra 2. fehérje), amit denaturáló körülmények közt végrehajtott kísérletben igazoltunk, ahol a natív körülmények között egyetlen sávot adó enzim mintegy hat polipeptidre esett szét. Ezek közül, kivágtuk a legerősebben festődő sávot, s ezt tömegspektrofotometriás úton *de novo* szekvenáltuk. A fehérje a szekvenciaanalízis alapján oxidoreduktáz fehérjének bizonyult, és legnagyobb meglepetésünkre fehérjeszekvenciája pontosan megfelelt a már azonosított genomiális fragmenten elhelyezkedő ORF3 génterméknek (4. ábra). A másik sáv (1-es protein) ezzel szemben nem esett szét különböző alegységekre denaturáló körülmények között, így ez homomultimer komplex. A proteinszekvenálás eredményeképpen ebben a sávban egy glutamin szintáz enzimmel hasonlóságot mutató proteint és egy groEL fehérjedarabot találtunk. A glutamin szintáz aminocsoportáthelyezést katalizál, s az anilin lebontásának tanulmányozása során korábban szintén találtak egy glutamin szintáz



7. ábra Szulfanilsav hatására indukálódó fehérjék a *Sphingomonas subarctica* citoplazmatikus frakciójában, natív (A) és denaturáló (B) gélen. A natív gélen jelölt két sávot kivágtuk, és az ezekben levő fehérjéket futtattuk meg denaturáló gélen.

jellegű alegységet [26,27]. Ennek feltételezett szerepe az aminocsoport átvitelében lehet, és hasonló szerepet játszhat a szulfanilsav lebontása során is. A részleges fehérjeszekvencia alapján degenerált primerpárokat terveztünk, ezek segítségével amplifikáltunk egy 510 bp régiót, melyet próbaként használva azonosítottunk egy 10 kb méretű genomális régiót. Ennek analízise az alábbi eredményeket hozta: A glutamin szintáz génjétől 5' irányban egy gyűrűhidroxiláló funkcióval rendelkező dioxigenáz enzim génje található, amely akár a deaminálási lépés utáni reakciót is katalizálhatja, hiszen ahhoz, hogy a szulfanilsav szulfokatekollá alakuljon, az aminocsoport eltávolítása szükséges. Ezt követi (vagy ezzel párhuzamosan halad) egy hidroxilálási lépés, amelyet ilyen típusú dioxigenázok végeznek. Az oxidációban – a fenti proteomikai megfontolások alapján – még az ORF3-nak nevezett oxidoreduktáz is szerepet játszhat. A génektől 3' irányban pedig egy mukonát izomerázzal homológiát mutató enzim génje helyezkedik el. Két transzpozáz fogja közre ezt a három gént. A glutamin szintáz génjének genomális kontextusa is arra utal, hogy az nem az aminosav-bioszintézisben játszik szerepet, hanem csupán deamináz funkcióval rendelkezik az enzim, hiszen génje közvetlen közelében olyan fehérjék lokalizáltak, melyek aromás vegyületek lebontásában vesznek részt.

Köszönetnyilvánítás

A szerzők ezúton szeretnének köszönetet mondani az Oktatási Minisztériumnak a Biotechnológia 2002 keretében a projekt számára nyújtott anyagi támogatásáért (BIO-00052/2002, OMFB-01623/2002).

Irodalomjegyzék

- [1] Feigel, J. B., Knackmuss, H. J. (1988) Bacterial catabolism of sulfanilic acid via catechol-4-sulfonic acid. *FEMS Microbiol. Lett.*, **55**: 113–118.
- [2] Bruckner, Gy (1979): Szerves kémia II-1. Tankönyvkiadó, Budapest; pp. 528–531.
- [3] Junker, F., Leisinger T., Cook A. M. (1994) 3-Sulphocatechol 2,3-dioxygenase and other dioxygenases (EC 1.13.11.2 and EC 1.14.12.-) in the degradative pathways of 2-aminobenzenesulphonic, benzenesulphonic and 4-toluenesulphonic acids in *Alcaligenes sp.* strain O-1. *Microbiology*, **140**: 1713–1722.
- [4] Cook, A. M., Laue, H., Junker, F. (1998) Microbial desulfonation. *FEMS Microbiol. Rev.*, **22**: 399–419.
- [5] Perei, K., Rákhely, G., Kiss, I., Polyak, B., Kovacs, K. L. (2001). Biodegradation of sulfanilic acid by *Pseudomonas paucimobilis*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **55**: 101–107.
- [6] Harayama S., Kok, M., Neidle, E. L. (1992) Functional and evolutionary relationships among diverse oxygenases. *Annu. Rev. Microbiol.*, **46**: 565–601.
- [7] Momma, K., Okamoto, M., Mishima, Y., Mori, S., Hashimoto, W., Murata, K. (2000) A novel bacterial ATP-binding cassette transporter system that allows uptake of macromolecules. *J. Bacteriol.*, **182**: 3998–4004.
- [8] Mishima, Y., Momma, K., Hashimoto, W., Mikami, B., Murata, K. (2001) Super-channel in bacteria: function and structure of the macromolecule import system mediated by a pit-dependent ABC transporter. *FEMS Microbiol. Lett.*, **204**: 215–221.
- [9] Feigel, B.J., Knackmuss, H.J. (1993) Syntrophic interactions during degradation of 4-aminobenzenesulfonic acid by a two species bacterial culture. *Arch. Microbiol.*, **159**: 124–130.
- [10] Hammer, A., Stolz, A., Knackmuss, H. (1996) Purification and characterization of a novel type of protocatechuate 3,4-dioxygenase with the ability to oxidize 4-sulfocatechol. *Arch. Microbiol.*, **166**: 92–100.
- [11] Contzen, M., Stolz, A. (2000) Characterization of the genes for two protocatechuate 3, 4-dioxygenases from the 4-sulfocatechol-degrading bacterium *Agrobacterium radiobacter* strain S2. *J. Bacteriol.*, **182**: 6123–6129.
- [12] Tan, G. C. N., Prenafeta-Boldu, F. X., Opsteeg, L. J., Lettinga, G., Field, A. J. (1999) Biodegradation of azo dyes in cocultures of anaerobic granular sludge with aerobic aromatic amine degrading enrichment cultures. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **51**: 865–871.
- [13] Coughlin, M. F., Kinkle, B. K., Bishop, P. L. (2003) High performance degradation of azo dye Acid Orange 7 and sulfanilic acid in a laboratory scale reactor after seeding with cultured bacterial strains. *Water Res.*, **37**: 2757–2763.
- [14] Coughlin, M. F., Kinkle, B. K., Bishop, P. L. (2002) Degradation of acid orange 7 in an aerobic biofilm. *Chemosphere*, **46**: 11–19.
- [15] White, D. C., Sutton, S. D., Ringelberg, D. B. (1996) The genus *Sphingomonas*: physiology and ecology. *Curr. Opin. Biotechnol.*, **7**: 301–306.
- [16] Nohynek, L. J., Nurmiaho-Lassila, E. L., Suhonen, E. L., Busse, H. J., Mohammadi, M., Hantula, J., Rainey, F., Salkinoja-Salonen, M. S. (1996) Description of chlorophenol-degrading *Pseudomonas sp.* strains KF1T, KF3, and NK1 as a new species of the genus *Sphingomonas*, *Sphingomonas subarctica sp. nov.* *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **46**: 1042–1055.
- [17] Tirola, M. A., Mannisto, M. K., Puhakka, J. A., Kulomaam M. S. (2002) Isolation and characterization of *Novosphingobium sp.* strain MT1, a dominant polychlorophenol-degrading strain in a groundwater bioremediation system. *Appl. Environ. Microbiol.*, **68**: 173–180.
- [18] Tirola, M. A., Wang, H., Paulin, L., Kulomaa, M. S. (2002) Evidence for natural horizontal transfer of the *pcpB* gene in the evolution of polychlorophenol-degrading *Sphingomonads*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **68**: 4495–4501.
- [19] Magony, M., Perei, K., Kákonyi, I., Kovács, L. K., Rákhely, G. (2004) Biodegradation of xenobiotics. *European Symposium on Environmental Biotechnology, ESEB 2004*, ISBN 90 5809 653X, pp. 807–810.
- [20] Magony, M., Perei, K., Kákonyi, I., Kovács, L. K., Rákhely, G. (2004) Cross-reactivities among the sulfanilic acid and *p*-amino-benzoic acid degradation pathways in *Sphingomonas subarctica*. *Biodegradation*, megjelenés alatt.
- [21] Contzen, M., Burger, S., Stolz, A. (2001) Cloning of the genes for a 4-sulphocatechol-oxidizing protocatechuate 3,4-dioxygenase from *Hydrogenophaga intermedia* S1 and identification of the amino acid residues responsible for the ability to convert 4-sulphocatechol. *Mol Microbiol.*, **41**: 199–205.
- [22] Nam, J. W., Nojiri, H., Yoshida, T., Habe, H., Yamane, H., Omori, T. (2001) New classification system for oxygenase components involved in ring-hydroxylating oxygenations. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **65**: 254–263.
- [23] Magony, M., Perei, K., Medzihradsky, F. K., Kovács, L. K., Rákhely, G. (2004) Biodegradation pathway of the 4-sulfocatechol (and sulfanilic acid) in *Sphingomonas subarctica* SA1 strain. *J. Bacteriol.*, megjelenés alatt.
- [24] Kallastu, A., Horak, R., Kivisaar, M. (1998) Identification and characterization of IS1411, a new insertion sequence which causes transcriptional activation of the phenol degradation genes in *Pseudomonas putida*. *J. Bacteriol.*, **180**: 5306–5312.
- [25] Eulberg, D., Lakner, S., Golovleva, L. A., Schlomann, M. (1998) Characterization of a protocatechuate catabolic gene cluster from *Rhodococcus opacus* ICP: evidence for a merged enzyme with 4-carboxymuconolactone-decarboxylating and 3-oxoadipate enol-lactone-hydrolyzing activity. *J. Bacteriol.*, **180**: 1072–1081.
- [26] Fujii, T., Takeo, M., Maeda, Y. (1997) Plasmid-encoded genes specifying aniline oxidation from *Acinetobacter sp.* strain YAA. *Microbiology*, **143**: 93–99.
- [27] Takeo, M., Fujii, T., Maeda, Y. (1998) Sequence analysis of the genes encoding a multicomponent dioxygenase involved in oxidation of aniline and *o*-toluidine in *Acinetobacter sp.* strain YAA. *J. Ferm. Bioeng.*, **85**: 17–24.

Szénhidrogénnel szennyezett talajok bioremediációja

Bioremediation of hydrocarbon contaminated soils

*Szoboszlai Sándor, Atzél Béla,
Cserháti Mátyás, Szabó István*

Szent István Egyetem, Környezeti Elemek
Védelme Tanszék, 2100 Gödöllő, Páter K. u. 1.
E-mail: atzelb@spike.fa.gau.hu

*Szoboszlai, S., Atzél, B., Cserháti, M.,
Szabó, I.*

Szt. István University, Dept. of Protection of
Environmental Elements, H-2100 Gödöllő, Páter
K. u. 1, Hungary E-mail: atzelb@spike.fa.gau.hu

Összefoglalás

Szénhidrogénnel (CH) szennyezett kárhelyekről izoláltunk több mint száz mikroszervezetet, majd ezeket vizsgáltuk patogenitásuk, biodegradációs képességük, valamint CH-bontási spektrumuk tekintetében. Szelektáltunk négy baktérium-, illetve sugárgombatörzset, melyek bioaugmentációs célú használhatóságát laboratóriumi talaj-respirációs vizsgálatokban összehasonlítottuk a spontán, illetve támogatott spontán biodegradációs módszer hatékonyságával.

Summary

Over one hundred strains from hydrocarbon contaminated sites were isolated and examined for their pathogenic properties, hydrocarbon utilizing ability and hydrocarbon degrading spectra. Four bacteria and Actinomyces strains were selected, the bioaugmentation applicability of which was compared to the efficacy of the spontaneous, as well as the promoted spontaneous biodegradation methods using soil respiration investigations.

Bevezetés

Biodegradáció elnevezéssel a mikroszervezetek által végzett, biológiai–biokémiai történések sorozatán keresztül megvalósuló, lebontási (katabolitikus), illetve átalakítási (transzformációs) folyamatokat foglaljuk össze. Abban az esetben, ha a CH-lebontás és -átalakítás körülményeit, feltételeit javító emberi beavatkozással gyorsítjuk ezeket a folyamatokat, úgy stimulált (irányított) biodegradációról beszélünk [1–3].

Bár a CH-vegyületek biodegradációjáról több mint száz éve számoltak be először [4], ez a témakör még a mai napig is sok érdekes, megoldandó kutatási feladatot tartogat. A bioremediáció alkalmazását elsődlegesen azért tartják környezetbarátnak, mivel a sokféle CH-vegyület a biodegradáció során ténylegesen lebomlik, veszélytelen anyagokká (CO₂ és H₂O) alakul, míg a fizikai-kémiai talajtisztítási eljárások során fő tömegük csak más közegbe (pl. extrahálószerbe, adszorbensbe, levegőbe) helyeződik át [5]. Ráadásul a biodegradáció során képződő szén-dioxid és víz a talajkapillárisokban bekapcsolódik a talaj biológiai–kémiai rendszerébe.

Kármentesítések szempontjából többféle biodegradációról beszélhetünk. A spontán biodegradáció (öntisztulás) során a szennyezett közegben megjelenő szénforráshoz alkalmazkodva (adaptálódva) a kárhelyen meglévő mikroszervezetek közül azok szaporodnak fel, amelyek képesek a CH-vegyületek hasznosítására. A szennyezés lassan és rossz határfokkal, nagy koncentráció esetén pedig egyáltalán nem degradálódik. A támogatott spontán biodegradációs eljárások alkalmazásakor a talaj adott CH-bontó mikroszervezeteit tápanyag (N, P, K), nedvesség és főként oxigén vagy más, sejtlegzést támogató, elektronmegkötő (redukálódó) anyagokkal látják el [6]. Elfogadható és hatékony lehet a fajszinten azonosított, ismert tulajdonságokkal rendelkező, a kárhelyről vagy laboratóriumi törzsgyűjteményből származó mikroszervezeteket alkalmazó módszer, melyet (tudatos) talajoltásnak vagy bioaugmentációnak neveznek. Ebben az esetben megvan az esélye annak, hogy a talajba juttatott, ismert tulajdonságú (pl. nem patogén, tisztázott CH-bontási spektrumú és szennyezőanyag-tűrésű), nagyszámú (10⁶–10⁸ élő sejt/g kezelt talaj) mikroszervezet viszonylag gyorsan és

hatékonyan, sok esetben a helyi mikrobióta CH-bontó fajait háttérbe szorítva – vagy azokkal együttműködve – elvégezze a kárhelyen a kívánt eredményű biodegradációt [7].

Kutatásunk fő célja az volt, hogy a CH-bontó mikroorganizmokat izoláljuk. A válogatás során a következő alapkritériumokat alkalmaztuk: a vizsgált baktériumok mai ismereteink szerint ne legyenek patogének, alkalmasak legyenek *in situ on site, ex situ on site/off site* talajoltásra (bioaugmentáció), elsősorban magasabb szénatomszámú komponenseket tartalmazó kőolajszármazékok, így a régebbi eredetű, a helyben lévő mikroflóra által „meghagyott” szennyezések lebontására, mineralizációjára.

Módszer

CH-bontó mikroorganizmók dúsítása, szelektálása. A talajmintákból szuszpenziót készítettünk (10 g talaj, 90 ml steril desztillált víz, 0,01 ml TWEEN 80, sterilizálás autoklávban, 15 percig 121 °C-on), majd a szuszpenziókat egyedüli szénforrásként szénhidrogént tartalmazó tápoldatban szelektációs nyomásnak tettük ki. Ezek a rázott tenyészetek 90 ml OIR III. tápoldatot (5,0 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,5 g KH_2PO_4 , 1,0 g K_2HPO_4 , 0,5 g $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$, 0,2 g $\text{CaCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$, 0,01 g $\text{FeSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$, 0,5 g pepton, 1000 ml desztillált víz), egyedüli szénforrásként gázolajat, kőolajat, kerozint vagy klór-benzolt és 10 ml talajszuszpenziót tartalmaztak. (Az OIR III. tápoldatot 15 percig 121 °C-on, autoklávban, a bemért szénhidrogént 0,22 μm pórusátmérőjű membránszűrővel sterilizáltuk). A szuszpenziókkal beoltott lombikokat

ezután 29 °C-on, 144 órán keresztül 150/min fordulatszámú rázatás mellett inkubáltuk. A szelektációs nyomást háromszori továbboltással biztosítottuk.

Potenciálisan CH-bontók izolálása tiszta tenyészetben. A szelektáció túlélőit – melyekről elmondhatjuk, hogy CH-bontó, illetve -toleráns baktériumok – lemezöntéses módszerrel izoláltuk, majd további vizsgálatokig TGE-5 ferde agaron (5,0 g tripton, 5,0 g glükóz, 2,5 g élesztőkivonat, 15,0 g agar, 1000 ml desztillált víz, autoklávban 15 percig 121 °C-on sterilizálva) tároltuk.

Izolátumok előszelektációja, a feltételezhetően patogén mikroorganizmók kiválogatása. Az izolátumokat Baird-Parker-agar, véres agar, BLP agar, Campylobacter-szelektív agar, Enterococcus-szelektív agar, MacConkey agar és cefimid agartáptalajokon teszteltük. A további vizsgálatokból kizártuk azon izolátumokat, melyek a felsorolt táptalajok bármelyikén is szaporodást mutattak, mivel ezekről feltételezhető volt az egészségügyi kockázat.

A tiszta tenyészetben izolált mikroorganizmók biodegradációs képességének előzetes vizsgálata. A nem patogén mikroorganizmók CH-bontó képességéről rázott tenyészetből, gravimetriás módszerrel tájékozódunk. Először minden törzs tiszta tenyészetéből nagy élősejtszámú inokulumot készítettünk TGE-5 tápoldatban, melyet 72 óráig 29 °C-on 150/min fordulatszámú rázatás mellett inkubáltunk. Ezután a 72 órás inokulumok 5–5 ml mennyiségével beoltottunk 90 ml OIR III tápoldatot és 2 ml gázolaj/kőolaj (3:2) keveréket (1,77 g) tartalmazó lombikot, amelyet 144 órán keresztül 29 °C-on



Szoboszlay Sándor 1981-ben végzett agrármérnökként a Gödöllői Agrártudományi Egyetemen. 1984-ben az egyetem Mikrobiológia Tanszékének munkatársaként doktorált, majd 2000-ig a Szent István Egyetem Kémia és Biokémia-, ezt követően pedig a Környezeti Elemek Védelme Tanszékén dolgozott. Kutatási területe a környezetszennyező anyagok biológiai lebonthatósága és a mikroorganizmók bioremediációs technológiáiban való alkalmazhatóságának környezetbiztonsági kérdései. PhD-fokozatát ez utóbbi témakörben szerezte 2003-ban, a Zrínyi Miklós Nemzetvédelmi Egyetemen.

Atzél Béla 2003-ban végzett környezetgazdálkodási agrármérnökként a Szent István Egyetemen. Jelenleg a Környezeti Elemek Védelme Tanszéken PhD-hallgató. Munkája kőolajszármazékok biodegradációjára, valamint bioremediációs eljárások környezetbiztonsági kérdéseinek elemzésére terjed ki.



Cserhádi Mátyás egyetemi hallgató a Szent István Egyetemen. Kutatási területei: állati eredetű kompozttal kezelt területek talajhigiénés jellemzői, fakultatív patogén mikroorganizmók antibiotikumrezisztencia-vizsgálata.

Szabó István környezetgazdálkodási agrármérnök. A terepi kísérletek és mintavételek tervezésével, valamint a távérzékelési és modellezési feladatok ellátásával 2002 óta segíti a Környezeti Elemek Védelme Tanszék munkáját.



150/min fordulatszámú rázatás mellett inkubáltunk. Az inkubáció után oldószeres extrahálással visszanyerhető a le nem bontott CH, melynek mennyiségét gravimetriás úton határoztuk meg. A módszer hibáját is figyelembe véve – melyet azonos előkészítő és inkubációs körülmények között tartott kontrollmérések során rögzítettünk (abiotikus veszteségek) – kiszámítható a vizsgált baktériumtörzs CH-bontó képessége százalékban kifejezve. A 30%-os értéknél nagyobb CH-bontást mutató baktériumokat faj szinten meghatározta a Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteménye (NCAIM).

A jó CH-bontó baktériumok részletes biodegradációs tulajdonságainak tesztelése. Az 50%-nál nagyobb CH-bontó képességgel rendelkező törzsek által le nem bontott olaj összetételének kvalitatív infravörös (IR) spektroszkópiás és gázkromatográfiás (GC) elemzésével megkaptuk a baktériumok egyéni CH-bontási spektrumát.

Oltóanyag előállítás talajoltáshoz. Az oltóanyaghoz négy baktériumtörzset (*Pseudomonas sp.*, *Micrococcus sp.*, *Rhodococcus sp.*, *Nocardia sp.*) használtunk, melyeket úgy választottuk meg, hogy azok CH-bontási spektrumai kiegészítsék, illetve átfedjék egymást. A négy törzs tiszta tenyészetéből külön-külön TGE-5 tápoldatban 48 órás inokulumot készítettünk (*ld. fent*), majd az inokulumot steril TGE-10 tápoldatba juttatva Magnaferm fermentorban 72 óráig inkubáltuk. Az így készült négyféle fermentlevet steril körülmények között elegyítettük, majd fiziológiás sóoldattal 10^6 CFU/ml élősejtszámmára hígítottuk. Ilyen nagyságrendű élősejtszámmal már megfelelő hatásfokú biodegradációt lehet elérni, és az eredeti inokulumok csíraszámából adódóan (10^8 – 10^9 CFU/ml) 100–1000-szeresére hígítva is kellő térfogatú oltóanyagot állíthatunk elő akár 100 m^3 talaj beoltásához is.

Bontási kísérletek laboratóriumi körülmények között. OxiTop talajrespirométerben (1. ábra) 220 g gázolajjal szennyezett talajt 8 ml OIR III tápoldat (N,P,K-forrásként) és 12 ml oltóanyag hozzáadásával $20 \text{ }^\circ\text{C}$ -on 30 napig inkubáltuk. A rendszerben a mintában lévő baktériumok légzésük során oxigént fogyasztanak, és közben az oxigénnel egyenértékű szén-dioxidot bocsátanak ki. A kibocsátott CO_2 nátrium-hidroxid-oldatban nyelődik el, ezért a mérőedényben vákuum keletkezik, mely arányban

áll az elfogyasztott O_2 mennyiségével. A készülék segítségével halmozott nyomásváltozást regisztráltunk az edényekben, amiből a talaj oxigénfogyasztása (biológiai aktivitása) számolható. Az inkubációs idő után a CH-bontás mértékét gázkromatográfiás mennyiségi analízissel is ellenőriztük.



1. ábra Az OxiTop talajrespirométer.

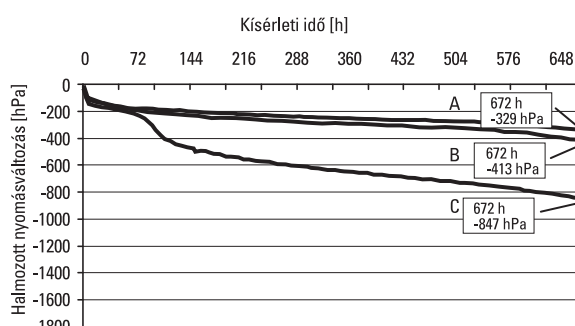
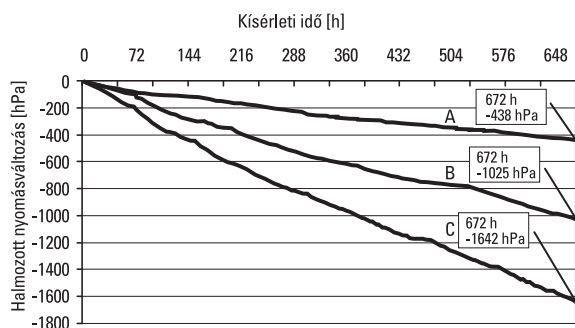
Eredmények

A szénhidrogénnel szennyezett kárhelyről (összesen 11 hely) származó kiindulási talajmintából 129 CH-bontó mikroszervezetet izoláltunk. Ebből 65 törzs a feltételezhetően patogén mikroszervezetre szelektív táptalajokon szaporodott, ezért ezeket a további vizsgálatokból kizártuk. A megmaradt 64 izolátummal CH-bontási kísérleteket végeztünk, melyek után a 30%-nál nagyobb biodegradációs képességgel rendelkező izolátumokat (51) faj szinten identifikáltuk. Az előzetes vizsgálatok szerint az 51 törzsből 26 nem jelent egészségügyi kockázatot az emberre és a gerincesekre. Ezekkel a baktériumokkal részletes biodegradációs vizsgálatokat végeztünk, melyek közül 11 izolátum 50% feletti CH-bontó képességgel rendelkezett. Ennek a 11 baktériumtörzsnek meghatároztuk az egyéni CH-bontási spektrumát azért, hogy az oltóanyag összetételét – és ezáltal enzimek készletét – a lehető leghatékonyabban tudjuk a kárhelyen jelen lévő szennyező komponensekhez igazítani. A kísérletekben vizsgált, gázolajjal szennyezett talajokhoz négy baktérium együttes használata bizonyult a leghatékonyabbnak. A négy baktériumtörzs: *Micrococcus nishinomiyaensis*, *Pseudomonas vesicularis*, *Nocardia rubra*, *Rhodococcus rhodochrous*.

A felhasználásukkal készült oltóanyag alkalmazhatóságát vizsgáltuk két – szennyezett talajprizmából származó – talajmintán talajrespirométerben, összehasonlítva kontrollmérésekkel és a támogatott spontán biodegradáció módszerével (2. ábra).

A prizmák összes alifás CH- szennyezésének (TPH-szennyezésének) összetevői hosszú szénláncú, magas forrásponttal jellemezhetőek, és a nem illékony (szénatomszám > 12) kategóriába sorolhatók. A 203 jelzésű minta átlagos kiindulási TPH-szennyezettsége 21300 mg/kg, a 217 jelzésű mintáé pedig 14300 mg/kg volt. A legnagyobb vákuum a mérőedényekben mindkét minta esetében az N,P,K-kiegészítéssel egyidejűleg végzett talajtöltés esetén mutatkozott. Ez azt jelenti, hogy a kezelés jeletősen megnövelte a szennyezett közeg biológiai aktivitását, ami a talaj mikrobiotájának fokozódó anyagcseréjéből fakad.

A kísérlet eredményeként megállapítható, hogy a 217 jelű minta esetében az N,P,K-kiegészítéssel ellátott sorozat 25(±5)%-kal, az N,P,K-kiegészítéssel + oltóanyaggal kezelt sorozat 157(±8) %-kal nagyobb biológiai aktivitást mutatott, mint a kontrollsorozat. Ezek az értékek a 203 jelzésű prizmából származó minta esetében még nagyobb mértékű CH-bontásra engednek következtetni. Az N,P,K-kezelés 134(±7)%-kal, az N,P,K+oltóanyagos kezelés 274(±8)%-kal volt hatékonyabb a kontrollsorozatnál. A próbabontási kísérletek eredményeit összefoglalva az I. táblázatban mutatjuk be.



2. ábra Szennyezett talajprizmából származó talajminták biológiai aktivitása OxiTop rendszerben: 203 jelzésű talajminta (fent), 217 jelzésű talajminta (lent). A kísérleti körülményektől függő mértékű folyamatos nyomáscsökkenés tapasztalható a kísérlet teljes időtartama (672 h) alatt (A: kontroll, B: N,P,K-kiegészítés, C: oltóanyag+N,P,K).

I. táblázat Szennyezett talajprizmából származó talajminták próbabontási vizsgálata: halmozott nyomásváltozás 672 óra után az OxiTop respirométeres rendszerben.

Halmozott nyomásváltozás [hPa]		
	203. sz. talajminta	217. sz. talajminta
Kontroll	-438	-329
N, P, K-kiegészítés	-1025	-413
Oltóanyag + N, P, K	-1642	-847

Következtetések

A CH-bontási képességgel rendelkező mikroszervezetek szelekciója során abból indultunk ki, hogy a talajok mikrobiotájának összetétele – megfelelő expozíciós idő után – alkalmazkodik a környezetben megjelenő szennyezőkhöz, vagyis a talaj-ökoszisztéma biokémiai energiaforgalmán keresztül hasznosítja ezen anyagokat. A munkánk során izolált 129 CH-bontó mikroszervezet közül 11 olyan baktériumot találtunk, amelyek fenotípus alapján nem patogének/fakultatív patogének és szubmerz tenyészetekben 50% feletti CH-bontási aktivitást mutattak.

Gázkromatográfiai vizsgálatokban felvettük ezen mikroszervezetek egyéni CH-bontási spektrumát, majd bidegradációs képességüket talajrespirációs vizsgálatokban minősítettük. A vizsgálat laboratóriumi körülmények között megerősítette, hogy a talajtöltés (bioaugmentáció) eredményesebb lehet, mint a kárhely autochton mikrobiotájának önmagában való stimulációja.

Közleményünk az OMFB-02341/2000 sz. téma „Biotechnológia 2000” pályázat beszámolójának kibővített változata.

Irodalomjegyzék

- [1] Szoboszlai, S., Török, G., Kriszt, B., Rúzs-Molnár, S. (1995) *Biotechnológia és környezetvédelem – ma és holnap*, IX: 34–37.
- [2] Szoboszlai, S., Solymosi, J., Kriszt, B. (2002) *Acad. Appl. Res. Military Sci.*, 1: 103–117.
- [3] Török G., Szoboszlai, S., Kriszt, B., Rúzs-Molnár, S. (1996) MTA Általános Mikrobiológiai Bizottsága Előadótalálkozó, Budapest, Magyar Tudományos Akadémia Székháza, 1996. 02. 21.
- [4] Miyoshi, M. (1895) *Jahrb. Wiss. Botan.*, 28: 269–289.
- [5] Simon, L. (1999): In: Talajszennyeződés, talajtisztítás. (Anton A., Dura, Gy., Gruiz, K., Horváth, A., Kádár, I., Kiss, E., Nagy, G., Simon, L., Szabó, P. Eds.) 2. (bővített) kiadás. Budapest, KGL, pp. 165–185.
- [6] Maier, R. M. (2000) In: Environmental Microbiology. (Maier, R. M., Pepper, I. L., Gebra, Ch., P., Eds.) New York, Academic Press, pp. 363–402.
- [7] Korda, A., Santas, P., Tenete, A., Santas, R. (1997) *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 48: 677–686.

Táplálkozásgenomika – egy új tudományág?

Nutritional genomics – a new scientific principle?

Lásztity Radomír

Biokémiai és Élelmiszertechnológiai Tanszék,
Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi
Egyetem, 1111 Budapest, Műegyetem rkp. 3.

Összefoglalás

A táplálkozás és az egészség közötti szoros kapcsolat (újra)felismerése, a civilizációs betegségek széles körű elterjedése jelentős változásokat eredményezett mind a táplálkozástudományban, mind az élelmiszergyártás gyakorlatában. Előbbiek hatására jelentek meg a piacon a funkcionális élelmiszerek és a nutraceutikumok [1–3]. Úgy tűnik, újabb előrelépés történik ezen a területen. Az emberi genom megismerésében az utóbbi években elért eredmények hatással voltak, illetve vannak egy sor egyéb, néha távolinak tűnő tudományterületre is. Az előbbieken említett kutatások egyik fontos megállapítása, hogy az emberi génszekvenciákban egyedi eltérések fordulhatnak elő, amelyek a környezeti tényezők hatására adott válaszok különbözőségét is eredményezhetik. Tekintve, hogy a táplálkozás (a diéta) a leglényegesebb környezeti tényező, az emberi szervezet reagálása az élelmiszerekkel felvett anyagokra kisebb-nagyobb mértékben függhet a génállományban előforduló különbségektől. Ezzel a problémakörrel foglalkozik a *táplálkozásgenomika* (angol szokásos elnevezése: *nutrigenomics*). Alapvető eltérése a hagyományos táplálkozástudománytól, hogy az egyes csoportokba (kor, nem, foglalkozás stb. szerint) sorolt fogyasztókat nem tekinti azonosoknak genom szempontból és következésképpen tápanyagigény szempontjából sem.

Bevezetés

Mint sok más tudományág, a táplálkozásgenomika sem előzmények nélkül álló terület. Az egyik gyakori megfigyelés – nevezetesen, hogy azonos diétán levő egyének egyikére az adott táplálék-összetétel semmiféle negatív hatással nincsen, míg a másikonál krónikus vagy akár súlyos betegség is jelentkezhet – okai között a tudósok az egyének között

Lásztity, R.

Department of Biochemistry and Food
Technology, Budapest University of Technology
and Economics
H-1111 Budapest, Műegyetem rkp. 3, Hungary

Summary

The (re)discovery of the close connection between nutrition and health, as well as the wide spread of civilizational diseases resulted in significant changes both within nutritional science and in food processing practice. The former consideration caused the market appearance of functional food products and nutraceuticals [1-3]. New progress appears to emerge on this area: knowledge gained lately in mapping the human genome affected and continue to affect various other, sometimes seemingly distant areas of science. An important statement of the above-mentioned research field is that individual variability may exist within human gene sequences, resulting in differences in responses to environmental factors. Because nutrition (the diet) is the most important environmental factor, the reaction of the human organism to substances taken through its food may depend to more or less extent on differences within the gene pool. *Nutrigenomics* deals with this specific topic. It fundamentally differs from dietetics in the aspect that it does not consider consumers classified into given groups (by age, gender, occupation, etc.) identical, neither from the aspect of the genome, and therefore, nor from the aspect of nutritive demand.

fennálló genetikai eltéréseket is feltételeztek. Később a biológiai, biokémiai ismeretek bővülésével sikerült kimutatni, hogy egyes, a nem megfelelő táplálkozásra visszavezethető betegségek hátterében egy-egy, az emberi metabolizmusban fontos szerephez jutó enzim hiánya játszik szerepet. Példaként említhető a fenilketonuria, amelynek oka a fenil-alanin-hidroxiláz enzim aktivitásának hiánya.

Így az ebben a betegségben szenvedő egyénnek fenil-alaninban szegény diétán kell élnie, hogy elkerülje a nemkívánatos metabolitok felszaporodását és az azok által okozott egészségi ártalmakat. Ma már egy sor ilyen típusú betegséget, enzimpátiát ismerünk. Az efféle, közvetlenül kimutatható kapcsolat a táplálkozás, a genetikai eltérés és a megváltozott, betegséget okozó metabolizmus között azonban az esetek viszonylag kisebb számára vonatkozik. Legtöbbször soktényezős, nagyobb részben fel nem derített összefüggésekről van szó.

A táplálkozásgenomika koncepcionális alapjait a következő öt pontban szokták megadni [4]: (1) Egyes személyeknél adott körülmények között a diéta számos betegség okozója, illetve kockázati tényezője lehet. (2) A szokásos táplálékkomponensek közvetve vagy közvetlenül hatást fejthetnek ki az emberi genomra, és befolyásolhatják a génextpressziót, esetleg a szerkezetet. (3) Annak a mértéke, hogyan befolyásolja az egészséges és beteg állapot közötti egyensúlyt a diéta, függhet az adott egyén genetikai adottságaitól. (4) Egyes, a diéta által befolyásolt gének (és azok természetes variánsai) szerepet játszhatnak a krónikus betegségek kialakulásában, továbbfejlődésében és súlyosságában. (5) A diéta olyan beállítása, amely a tápanyagigény pontos megállapításán, a tápláltsági állapot és a genotípus pontos ismeretén alapul, hatásos eszköz lehet a betegségek megelőzésében és gyógyításában.

A következőkben néhány – egyes krónikus, egészségügyi szempontból fontos szerepet játszó betegséggel kapcsolatos – példával mutatok rá a táplálkozásgenomika lehetőségeire és perspektíváira.

Krónikus betegségek és a táplálkozásgenomika

A bevezetésben már említettem, hogy egy sor betegség a tápanyag-metabolizmus folyamatában szereplő egyes enzimek nem kielégítő működésének a következménye. Itt nemcsak egy-egy enzim

aktivitásának teljes hiánya fordulhat elő, hanem az enzim genetikai okból eredő csökkent aktivitása is. Sok esetben a természetes úton létrejött kicsiny genetikai változás (*single nucleotide polymorphism*, SNP) megemeli az adott reakcióra vonatkozó Michaelis-féle állandó (K_m) értékét, vagyis csökkenti a koenzim (vagy a szubsztrát) affinitását az enzimhez. Ilyen esetben segítség lehet az érintett személy számára például a megnövelt koenzimbevitel. Ha a genetikai probléma ismert, az orvos és/vagy táplálkozáspecialista javaslatot tehet a koenzimpótlás legkedvezőbb módjára. Így például a táplálékkal bevitt nikotinsavamid mennyiségének növelése megemeli a NADPH-koncentrációt, s így helyreállíthatja az adott redoxfolyamat normális sebességét. Meg kell ugyanakkor jegyezni, hogy a NAD esetében nem sikerült ilyen úton ellensúlyozni azt a kedvezőtlen hatást, amit egy lizin–glutaminsav szubsztitúció okozott. Érdemes megemlíteni, hogy Elson-Schwab és Ames [5,6] internet útján is közzétettek egy, számos koenzimre vonatkozó információt tartalmazó összeállítást.

Diabetes

Ma már ismeretes, hogy a cukorbetegség az inzulinhormon hiányára vagy jelentősen csökkent aktivitására vezethető vissza. Ezzel párhuzamosan kialakultak a betegek diétájára vonatkozó általános szabályok is. Ha azonban arra gondolunk, hogy az inzulin szabályozó szerepének teljes mértékű érvényesülése, a jelátviteli lánc működése legalább 47 féle fehérje – köztük membránreceptorok, transzporterek, kinázok, foszfatázok, transzkripciós faktorok stb. – közreműködéséhez kötődik, továbbá arra, hogy az inzulin közvetve egy sor metabolikus folyamatra is hat, könnyen belátható, hogy az esetleges genetikai különbségek felderítése milyen nehézséget jelent. A táplálkozásgenomikusok úgy vélik, hogy a szubfenotípusok (például inzulinszint, glükóztolerancia) génjeinek vizsgálata alapján lehet fokozatosan eljutni a komplex fenotípusok tanulmányozásáig.



Lásztity Radomir (1929) a kémiai tudomány doktora, professor emeritus a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Biokémiai és Élelmiszertechnológiai Tanszékén. Fő kutatási területe az élelmiszer-biokémiához, valamint az élelmiszer-analitika és -minősítés kérdéseivel kapcsolódik. Nagyszámú (több mint 800) tudományos, oktatási, oktatás- és kutatásszervezési publikáció, jegyzetek, tankönyvek, magyar és angol nyelvű könyv szerzője. Számos hazai és külföldi tudományos kiténtetés birtokosa.

A keringési rendszer betegségei

A táplálkozás és a keringési betegségek közötti kapcsolat meglétét ma már óriási mennyiségű kutatási, orvosi megfigyelési adat támasztja alá. Mivel a betegség kialakulásának fő markerei a vér lipidjei között található, a kutatás ezek koncentrációsintjére és eloszlására összpontosított. Egy sor táplálkozási tényező hatását tanulmányozták például a vér koleszterinszintjére, és ezen vizsgálatok eredményei alapján készültek ajánlások a betegek, illetve a veszélyeztetettek diétájára vonatkozóan. A táplálkozásgenomikus ezekkel kapcsolatban a következő kérdést teszi fel: Valóban helyes-e az a gyakorlat, hogy minden beteg számára ugyanazt az ajánlást adjuk? Lehetséges-e, szükséges-e, hogy az emberi genom részletesebb ismerete alapján különbségeket tegyünk, figyelembe véve az egyének eltérő genetikai adottságait?

Hogy ez több esetben érvényes lehet, arra példaként hozható fel az a kísérletsorozat, amelynek során megállapították, hogy a kis sűrűségű lipoproteinek (LDL) spektruma alapján a vizsgált személyek két fenotípusba sorolhatók. A két (*A* és *B*) fenotípusú csoport között jelentős különbséget tapasztaltak a koronáriás artériák megbetegedési hajlamában, ugyanis ez az *A* fenotípusnál lényegesen alacsonyabb volt. A továbbiakban 38 *A* fenotípusba sorolt egyént a szokottnál kisebb zsírtartalmú diétára állították át. Tíznapos csökkentett zsírtartalmú diéta után 12 egyén átkerült a *B* fenotípusba (megváltozott az LDL-spektrum). Ez alapján feltételezhető, hogy ezeknek az egyéneknek nem felel meg a csökkentett zsírtartalmú diéta.

Egy másik példa: Svetkey és *mtsai* [7] szerint az angiotenzinogén-gén AA jelzésű variánsával rendelkező egyének esetében a magas vérnyomás ellen ajánlott DASH (*Dietary Approaches to Stop Hypertension*) diéta kedvező hatású volt. Ugyanakkor a másik csoportban (GG elnevezésű variáns) az ilyen diéta vérnyomáscsökkentő hatása jelentéktelennek bizonyult. Megjegyzi még a szerző, hogy az afro-amerikaiak kétharmada az AA csoportba tartozik.

A keringési betegségek kialakulásában szerepet játszó lipidmetabolizmus-folyamatokban jól ismert az APO-1 gén szerepe. Az első kutatások szerint egy Glu–Ala változás a gén promoterében a HDL-koleszterin szintjének emelkedését eredményezte. Későbbi kutatások viszont arra mutattak rá, hogy a

genetikai eltérés okozta változás iránya függ a diéta zsírtartalmának telítetlen:telített zsírsav arányától [8]. Az eredmény a génexpresszió és a táplálkozás közötti kölcsönhatásra mutat rá.

Roszzindulatú daganatok

Ismeretes a metilén-tetrahidrofolát-reduktáz enzim fontos szerepe a metabolizmusban, amely szerep közvetve érinti a metilezési reakciókat is. Több szerző [9] közölte, hogy a C667T polimorfizmus (Ala–Val csere) csökkenti ezen enzim aktivitását, ami összefüggést mutatott a vastagbél tumor előfordulási gyakoriságával. Ami a táplálkozásgenomika szempontjából érdeklődésre tarthat számot, az az előbbi megfigyeléssel kapcsolatban végzett táplálkozási kísérletek eredménye. Ezek során CC, illetve TT fenotípusba tartozó egyének diétájában változtatták a tetrahidrofolát, a B12-vitamin és a metionin szintjét. A kísérlet azt mutatta, hogy nem kielégítő folátbevitel esetén a TT fenotípus esetén a vastagbélrák előfordulásának kockázata nagyobb. Egyes – az emésztési metabolizmusban részt vevő enzimének polimorfizmusára vonatkozó – adatok arra utalnak, hogy az emlőrák kockázata szintén összefüggésben lehet táplálkozási tényezőkkel is.

Mi várható a jövőben? Hogyan tovább?

A diagnosztika fejlesztése kétségkívül alapvető feltétele annak, hogy a táplálkozásgenomika gyakorlati megalapozása és alkalmazása lehetségessé váljon. Hiszen az előforduló genetikai különbségek ismerete nélkül nem végezhető el azok a kísérletek, amelyek a diéta esetleges szerepét igazolják [10].

Amennyiben ilyen polimorfizmus tapasztalható, és igazolódik kapcsolata a diétával, csak akkor kerülhet sor a gyakorlati felhasználásra. Mikorra érhető el egy ilyen helyzet? A vélemények különbözőek. Kétségtelen, hogy a nagy gyógyszergyártó cégek és oktatási-kutatási intézmények részvételével alakult konzorcium részéről indított Humán Genom Projekt és az azt követő további projektek (pl. SNP, *Haplotype Map Project*) megfelelő kiindulási alapot képeznek. Ma már vannak olyan kereskedelmi laboratóriumok, amelyek fontosabb gének (például a redox állapottal, az elhízással kapcsolatos vagy más komplex genotípusok) SNP-analízisét vállalják.

Mindezek ellenére nem várható, hogy rövid időn belül megvalósulhat a tápanyagigény individuális meghatározását célzó genetikai tesztelés. Hiszen a

fenotípus és az optimális diéta közötti kapcsolat felderítése hosszú és költséges kísérleteket igényel. Hogy ez az idő mennyi lehet, arra Fogg-Johnson és Merolli [11] idéznek véleményt: „Kevesebb mint 10 év múlva lehetségessé válik mindenki számára, hogy felkeressen egy laboratóriumot, amely egy sor genetikai teszt elvégzése után megadja az illető személyes kockázatát a betegségekkel kapcsolatban. Amikor elhagyja a laboratóriumot, el lesz látva azon ételek listájával, amelyek fogyasztása biztosíthatja a betegségek megelőzését beleértve a táplálkozáskiegészítőket is.” A szakemberek úgy becsülik, hogy a genetikai tesztelés költségei is elfogadható mértékűek lesznek. Természetesen fennmarad még egy gyakorlati szempontból fontos kérdés: kívánja-e az egyén megtudni, hogy genetikai szempontból milyen kockázatokra számíthat? El lehet fogadni azt a feltételezést, hogy amennyiben az egyén tisztában van a diéta – genetikai polimorfizmus okozta – hatásaival a betegség kialakulására, étrendjét egyedileg úgy alakíthatja, hogy megelőzze (csökkentse) annak előfordulását. Ha a fenti információt az emberek már korán megkaphatják, bizton remélhető, hogy a következő generációk egészségi állapota javulhat.

Kihívás az élelmiszer-előállítók (vagy a gyógyszergyártók) számára?

Ez esetben is említhetünk előzményeket. A gluténmentes kenyér, a diabetikus készítmények, a laktózmentesített tej tulajdonképpen a táplálkozás-genomika gyakorlati alkalmazásának esetei. Várhatóan a kutatások előrehaladásával szükség lesz további speciális élelmiszerekre, gyógytápszerekre. A szükséges diéta komponenseit tartalmazó komplett élelmiszercsomagok is előállíthatók. Példa lehet a ketogén diéta, amelyet a gyermekgyógyászat alkalmaz az olyan epilepsziás betegeknél, akik a szokásos gyógyszeres kezelésre kevésbé reagálnak. Sok esetben tulajdonképpen csak a biológiailag aktív komponensre van szükség. Ahol például enzimhiányról vagy csökkent enzimaktivitásról van szó, megfelel az adott enzimkészítmény alkalmazása adott kiserelésben, amely egyben biztosítja, hogy az emésztőcsatorna meghatározott részén hasson. Emellett megemlíthető, hogy ha biztossá válik az a feltételezés, hogy az autizmus és skizofrénia kialakulásában a kazein nem megfelelő

emésztése (is) szerepet játszik, úgy az ezt kiküszöbölő fehérjebontó enzim adagolása indokolt lehet.

Ki gyártsa az új, speciális élelmiszereket, készítményeket, az élelmiszeripar vagy a gyógyszeripar? Nyilvánvaló, hogy az élelmiszeripar messzemenően érdekelt az egészséges táplálkozást elősegítő élelmiszerek gyártásában. Így a táplálkozásban újabb eredményeit igyekszik figyelembe venni a gyártás- és gyártmányfejlesztésben. Az élelmiszeriparban megfigyelhető a törekvés mind a biológiai-aktív komponens izolálására és előállítására, mind az aktív komponenssel dúsított termékek gyártására. Kétségtelen, hogy a gyógyszergyártók is növekvő érdeklődést tanúsítanak e terület iránt (részletesebben ld. [1]).

Kinek az asztala? A biokémikusé, az orvosé vagy az élelmiszer-kémikusé és -technológusé?

Kétségtelen, hogy a molekuláris biológia, a biotechnológia teremtették meg a táplálkozás-genomika kialakulásának és fejlődésének alapjait. A funkcionális élelmiszerek és a nutraceutikumok [1–3], még inkább a táplálkozáskiegészítő megjelenése közel hozta egymáshoz az orvosokat és az élelmiszer-tudománnyal foglalkozókat. Így a válasz az alcím-ben szereplő kérdésre csakis az lehet, hogy mindegyiküké.

Irodalomjegyzék

- [1] Hidvégi, M., Lásztity, R. (2000) Nutraceutikumok – élelmiszerek vagy gyógyszerek. *Élelmészeti Ipar*, 54: 325–328.
- [2] Biacs, P., Kardos, Á. (1999) Funkcionális élelmiszerek. *Biokémia*, XXIII: 9–14.
- [3] Hidvégi, M. (2001) Élelmiszer + gyógyszer = nutraceutikum. *Biokémia*, XXV: 9–15.
- [4] <http://nutrigenomics.ucdavis.edu>
- [5] Ames, B. N., Elson-Schwab, I., Silver, E. A. (2002) High-dose vitamin therapy stimulates variant enzymes with decreased coenzyme binding affinity (increased K(m)): relevance to genetic disease and polymorphisms. *Am J Clin Nutr.*, 75: 616–658.
- [6] <http://www.kmmutants.org>
- [7] Svetkey, L. P., Moore, T., Simons-Morton, D. G., Appel, L. J., Bray, C. A., Sacks, F. M., Ard, J. D., Mortensen, R. M., Mitchell, S. R., Conlin, P. R., Kasari, M. (2001) Angiotensinogen genotype and blood pressure response in the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) study. *J. Hypertens.*, 19: 1949–1956.
- [8] Ordovas, G. M., Corella, D., Cupples, I. A., Demissie, S., Kelleher, A., Colltel, O., Wilson, P. W., Schaefer, E. J., Tucker, K. (2002) Polyunsaturated fatty acids modulate the effect of APOA1 G-A polymorphism on HDL-concentration in a sex specific manner. The Framingham Study. *Am.J.of Clinical Nutr.*, 75: 38–46.
- [9] Slattery, M. I., Potter, J. D., Samowitz, W., Schaffer, D., Leppert, M. (1999) Methylene-tetrahydrofolate reductase, diet and risk of colon cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 8: 513–518.
- [10] Fogg-Johnson, N., Kaput, J. (2003) Nutrigenomics: An emerging scientific discipline. *Food Technology*, 57: 60–67.
- [11] Fogg-Johnson, N., Merolli, A. (2003) In: Nutrigenomics. The next wave in nutrition research (Life Sciences Alliance, Pleasanton, CA, USA).



Szyksznian Wanda, *Unikornis* (2003), számítógépes nyomtatás

Fontosabb díjai: Hungaroton nívódíjak (1972, 1973, 1974), Ferenczy Noémi-díj (2000).

Korai pályaválasztással, plakáttervező grafikusnak készült, amiben segítette lengyel családi és kulturális háttere (édesapja Magyarországra emigrált lengyel katonatiszt volt), s aminek révén „befutott” alkalmazott grafikus nevet szerzett jóval még grafikus diplomájának megszerzése előtt.

A nyolcvanas évek derekáig alkalmazott és reklámgrafikával foglalkozott, ezt követően érdeklődése különböző, nem konvencionális technikák felé fordult. Gyűrt papírra, szórópisztollyal dolgozik, majd felszabdalt olaj-vászon festménydarabjaiból kifejezően absztrakt kollázskompozíciókat készít: utóbbi irányzatát barátai „Wandalizmus” névvel illetik. Érdekes kontraszt mutatkozik reklámgrafikusként használt harsány színvilága és az olaj-vászon kollázsok szinte pasztellba hajló színezése között: az utca művészete és a művészeti kísérletezés kontrasztja. Készít földfestékekkel samottlapokra festett – az antik görög vagy a dél-amerikai



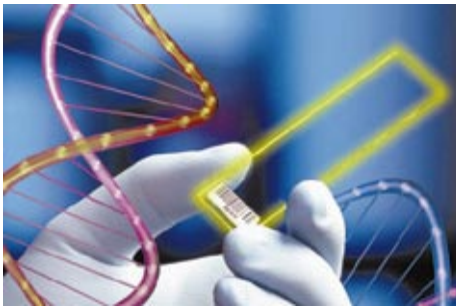
Szyksznian Wanda, *Hipokampus* (2003), számítógépes nyomtatás

dzsungelmintás kerámiákra emlékeztető – installációkat, s ezt az okker-fekete mellett élénkebb színekkel is kiegészülő szín- és motívumvilágot merített papíron, sőt merített papírból készült papírszobrokon is alkalmazza. Installációinak formai hordozója használati tárgy is lehet: agyag és merített papír alkalmazásával egyedi könyvinstallációkat készít. Legutóbbi „irányzatában” korábbi munkáinak felhasználásával számítógépbe bepásztázott, montázszerűen össze- és átdolgozott, majd kinyomtatott képeket alakít ki, melyet „digitari” technikának nevez. Nyugalomban lévőnek, állandósultnak korántsem nevezhető, témaválasztásáról és stílusáról szólva Feledy Balázs így fogalmaz: „A változtató, az önváltoztató attitűdön belül is ... van folyamatosan változó személyiség, akinél szinte metamorfózis tanúi vagyunk, ahol mindig az egyik formarendszerből a másikba való átalakulást, átváltozást érzékeljük, s ez – jó esetben – újjászületést is jelent. Nos, Szyksznian Wanda mindenképpen erre az utóbbira jó példa, már csak azért is, mert mint alkalmazott grafikusnak, tervezőgrafikusnak, mindig új és új témákhoz kellett alkalmazkodnia, s e munkák közben mindig alakított is valamit felfogásán, aztán annyit tárgult szemlélete a folyamatosan bővülő technológiák alkalmazásakor (papírművészet, kerámiaművészet), hogy sohasem érezhetjük pályáján a megállapodottságot.” Az itt látható képek a „Lengyel örökség” című, 2004. március 21. és május 24. között Budapesten, a Lengyel Intézetben tartott – személyes és szakmai életútját áttekintő – kiállításának anyagából származnak.



Szyksznian Wanda, *Odry* (2003), számítógépes nyomtatás

Az Agilent Technologies Inc. génexpresszió-vizsgálati rendszere



Napjaink *microarray*-technológián alapuló kutatásában különösen fontos a naprakész ge-

netikai információ: a betegségek biológiai lefolyásának megismerését és az asszociált új célgének meghatározását nagymértékben lelassíthatja, ha elavult géntartalmú *chip*et alkalmazunk. A génkutatás területén az új eredmények mindennaposak, ezért érdemes olyan *microarray*-t használni, melynek tartalma lépést tart a fejlődéssel. A védjegyzett *SurePrint* nyomtatási technológiának, valamint a géntartalom frissítésében közreműködő jelentős ipari együttműködéseknek köszönhetően lehetővé vált, hogy az Agilent Technologies az elérhető legnaprakészebb *microarray* rendszereket kínálja a jövő kutatásának.

Agilent *SurePrint* nyomtatótechnológiával gyártott *microarray chip*

A *SurePrint* nyomtatótechnológiával gyártott *chip* (1. ábra) nagy rugalmasságú, ipari tintasugaras *microarray*-nyomtatással folyamatos minőség-ellenőrzés mellett készül annak érdekében, hogy kiváló minőségű 60 bázis hosszúságú oligomer *microarray* *chipek* kerüljenek piacra, melyek egyedülállóak megbízhatóság, reprodukálhatóság és összetétel szempontjából. Az Agilent 60-as oligomer *microarray* 5-8-szor érzékenyebb, mint a 25 bázis hosszúságú oligomerformátum, ennek segítségével tehát olyan gének is vizsgálhatók, amelyek alacsony kópiaszámban expresszálódnak a sejtben. Az



1. ábra Agilent tintasugaras nyomtatótechnológiával készült *microarray chip*.

Agilent *microarray* *chipek* az alacsonyabb háttérzaj miatt előnyösebb kísérletkivitelezést tesznek lehetővé.

A *SurePrint* nyomtatótechnológián alapuló, helyben (*in situ*) történő oligomerszintézis lehetővé teszi a *microarray*-összetétel gyors megváltoztatását, így lépést tartva a genetikai tartalom és a gének annotálásának folyamatos bővülésével. Különösen kedvez ez azoknak, akik saját felhasználói *array*-t akarnak tervezni, hiszen az Agilent az egyedi Hewlett Packard szabadalmon alapuló nyomtatótechnológiának köszönhetően ezt kiváló minőségben el tudja készíteni. Ez a nyomtatótechnológia nem igényli maszkok előzetes elkészítését – így új összetételek, valamint a meglévők finomítása gyorsan és kisebb költséggel valósíthatók meg, mint más kereskedelmi forgalomban lévő vagy házilag gyártott *array*-k esetében. A jelenleg elérhető *chipek*: teljes emberi genom, egér, patkány, élesztő, rizs, *Arabidopsis*, *Magnaporthe*.

Felhasználói oligo *microarray* program

Specializáltabb *microarray*-kísérletek esetében kihasználhatók az Agilent felhasználói 60-as oligomer *microarray* előnyei. Az Agilent igény szerinti *microarray* *chipek* gyártását vállalja, s ehhez közzétehető *microarray*-tervezőszémákat és konzultáló szolgáltatást biztosít, amely felgyorsítja a felhasználói *microarray* *chipek* tervezésének folyamatát. Ezen felül létezik számos különböző sűrűségű *array*formátum – 44.000-től a 2x8000 pontot tartalmazó *array*-ig.

Mintaminőség-ellenőrzés a megbízhatóbb eredmények érdekében

Az Agilent 2100 Bioanalyzer műszere az RNS LabChip® reagenskészlettel együtt ténylegesen az RNS-minta minőség-ellenőrzési szabványa lett. A hagyományos gélelektroforézishez képest nagyobb hatékonyságot és egyedülálló pontosságot lehet elérni az RNS-integritás és az RT-PCR-termékek vizsgálatában – mindezt nagyobb érzékenységgel és a hagyományos gélelektroforézishez képest kisebb mintaigénnyel (1 µl), valamint az azonnali digitalizált feldolgozás miatt is lényegesen gyorsabban valósítja meg.

A rendelkezésre álló reagenskészletek: 1) RNS 6000 *Nano LabChip kit* – kimutatási határa 5 ng teljes RNS; 2) RNS 6000 *Pico LabChip kit* – kimutatási határa 200 pg teljes RNS; 3) Agilent DNS, sejt- és fehérjevizsgáló *LabChip* kitek. Ezen felül a 2100 Bioanalyzer műszer az *array*kísérlet további munkafázisaiban is jó szolgálatot tesz, hiszen a jelölt cDNS- és cRNS-próbák mennyiségét, tisztaságát és fragmentáltságát is képes meghatározni, emellett az *array*kísérlet után gényvalidálásra is alkalmazható. A műszerről részletesebb információt talál a *Biokémia* folyóirat előző számában.

Microarray minta-előkészítés, hibridizálás elejétől végig, optimalizált microarray reagenskiték

Az Agilent speciális *microarray* reagenskitjei lehetővé teszik, hogy Cyanine-3 és Cyanine-5 festékekkel jelölt nukleotidok épüljenek be a cDNS-, illetve cRNS-molekulákba. A felerősítési lépésnek köszönhetően – amely szekvenciára és kiindulási mennyiségre való tekintet nélkül az egyes expresszázó szakaszokat 240x-es mennyiségre szaporítja fel – a kiindulási mintából elegendő 50 ng mRNA, hogy a hibridizáláshoz elegendő mennyiségű cRNS-t kapjunk. A hibridizálás ideális körülményeit az Agilent *Hybridization Plus* optimalizált hibridizációs puffereket, blokkolóanyagokat és kontroll *target* DNS-eket tartalmazó *kit*je biztosítja.

Microarray-leolvasás kiváló minőségben

Az Agilent *SureScan* technológiája automatizált, kettőslézer-leolvasással rendkívül pontos és megbízható detektálást tesz lehetővé (2. ábra). A tapasztalati úton kifejlesztett *SureScan* technológia dinamikus autofókuszot használ a leolvasás közben, amely folyamatosan a fókuszsíkba igazítja az *array*-t hordozó, egyenetlen felületű üveglemezt. Ez az érzékenység területén és a leolvasási technológia megbízhatóságában lényeges előnyt jelent. A PMT beállítási funkció lehetővé teszi a telítésben lévő pontok pontos intenzitásmeghatározását is. Automata lézerteljesítmény-szabályozó is rendelkezésre áll, amely a lézerteljesítmény stabilizálását látja el.

A standard formátumra készült 1" x 3" (25 mm x 75 mm) üveglemezeket a lemeztartóba, majd egy 48 férőhelyes körforgós tárba kell helyezni, amely nemcsak a teljes körű automatikájával nyújt ké-



2. ábra Agilent microarray-leolvasó.

nyelmes megoldást, hanem nyitott formátuma miatt más, nem Agilent gyártmányú *array*-k leolvasását is nagy pontossággal végzi el 10 vagy 5 mikron pixelfelbontással. Minden leolvasó az Agilent *Feature Extraction* számítógépes programjával együtt érkezik, ez biztosítja a megbízható adatok kinyerését. A leolvasó mellett e program is nyitott, Agilent *array* mellett nem Agilent *array* pontelemzésére is alkalmas, emellett beépített hibamodellekkel és kiváló statisztikai eljárásokkal felszerelt, valamint képes a kilógó adatok azonosítására és a helyi háttérkorrekció beszámítására. Ezen felül gyors és hatékony adatkinyerést tesz lehetővé (kevesebb, mint 1 perc szükséges az Agilent 22.000 oligo *microarray* pontanalíziséhez). A kinyert hatalmas mennyiségű adat clusteranalízisére a Rosetta Bioinformatics által kifejlesztett *Luminator* program szolgál. Mind a Bioanalyzer készüléken, mind a microarray-leolvasón próbamérés végezhető előzetes egyeztetés alapján.

Andrásfalvy Márton

Kromat Kft.

Tel.: 248-2110

E-mail: marton.andrasfalvy@kromat.hu

kromat



Agilent Technologies
Innovating the HP Way

Hat év GM-vita

Mintegy hat évvel ezelőtt, 1998 augusztusában tette meg a Skóciában élő Pusztai Árpád a nagy vihart kavart bejelentését a londoni tv-ben (*Granada Channel*), amely aztán az európai fogyasztók többségét a *genetikailag módosított (GM)* növényekből készült *élelmiszerek* ellen fordította, sőt egyeseket általánosságban a biotechnológia ellen is. Azóta a helyzet is sokat változott, a vélemények is kristályosodtak – az enyém is. Ebben a cikkben a visszapillantás mellett pro és kontra érveket szeretnék ütköztetni.

A *GM-támogatók* érveit a következőképpen összegezhethetjük: kizárt dolog, hogy a genetikai módosítás bármilyen problémát okozhatna, hiszen ez végeredményben ugyanolyan, mint az évezredek óta sikerrel gyakorolt keresztezés. Függetlenül attól, hogy ez a vélemény milyen mértékben sántít, egy új technológiánál sohasem lehet teljesen kizárni az előre nem látható problémákat, amint arra az irodalom számos példát hoz fel [1]. A GM ellenzői rámutatnak, hogy a növényi biotechnológiánál is előfordultak problémák, például egy gyomnövénynek, a vadrepcének a keresztbeporzása a GM repce (*canola*) pollenjével [2] vagy a GM kukorica nem kívánt tovaterjedése. A humán génterápiát is többször le kellett állítani halálos baleset előfordulása, illetve fehérvérűség okozása miatt. Vitatott, hogy egy toxikus triptofánkészítmény okozta több mint félszáz halálesetnél (eosinophilia-myalgia szindróma, bőséges irodalommal) mennyiben játszott közre a technológia megváltoztatása, és mennyiben a triptofánt szintetizáló mikroba genetikai módosítása. Mindenesetre furcsa, hogy a hatalmas kártérítési összeget a biotech cégek „dobták össze” a vétkes japán cég számára. A szakértői vizsgálatokat a bíróság előtti megegyezéssel előzték meg, a mikrobatorzset pedig elpusztították. Úgyhogy mindenki azt gondol, amit akar. Egy biztos, a *genetikai módosítással járó veszély nem valamilyen elvont hipotézis*, hanem nagyon is reális formákat ölthet, még ha ritkán is. Ilyenkor aztán csak utólag lehetünk okosak.

A *GM ellenzői* azt hangoztatják, hogy a genetikailag módosított növényeket először alaposan meg kell vizsgálni és csak utána szabad azokat rászabadítani a környezetre, illetve az élelmiszer-fogyasz-

tóra. Ebben mindenki egyet is ért, az ördög azonban a részletekben van elrejtve, mégpedig abban, hogy mit célozzunk meg a vizsgálatokkal, hogyan vizsgáljunk, ki vizsgáljon és ki állja a számlát. A biotechnológia ellenzői nem elégszenek meg azzal, ha nem lehet káros hatást kimutatni, hanem megfordítják a kérdést, az ártalmatlanság bizonyítását kívánják. Az ilyen igények teljesíthetősége azonban nagyon is kérdéses. Ha százféle vizsgálat eredménye egyöntetűen negatív, akkor még mindig lehet követelni a 101-ediket, obstruálva az új termék bevezetését.

Nyilvánvaló, hogy valamiféle *kompromisszumra* volt és van szükség. A biotech cégeket sürgeti a verseny és a befektetett tőke megtérülésének igénye, nem akarnak túl sok pénzt és időt vesztegetni olyan biztonsági kérdésekre, amelyeket egyébként is feleslegesnek gondolnak. A jó *lobbimunka* következményeként az Egyesült Államokban az egymást követő kormányzatok meg is könnyítették a biotech cégek dolgát. Ennek ellenére állatkísérletek is történtek. Az élelmezési célokra (is) szánt szójababot többféle állatfajjal is etették (hal, baromfi, kérődző, monogasztrikus állat), de a vizsgálatok részletessége, mélysége nem volt kielégítő. Ezután a GM szója, majd a GM kukorica is rázúdult az amerikai fogyasztóra, egy hatalmas, globális kísérlet formájában. Az Egyesült Államokban jelölés híján a beteg még azt sem tudja megmondani a háziorvosának, hogy egyáltalán fogyasztott-e valamilyen GM élelmiszert. Erre mondta Pusztai: „*A kísérleti nyulaknak a laboratóriumban van a helyük és nem az utcán!*” Az ilyen „kézben nem tartott” kísérlet kizárólag akkor értékelhető, ha akut toxicitás mutatkozik. Szerencsére ilyen nem fordult elő, de nem is volt várható. De mi van a statisztikusan vagy hosszabb idő után érvényesülő alattomos hatásokkal? A dohányzásról több száz év után derült ki, hogy több szempontból is rendkívül ártalmas, és ezután még kb. egy évtizeden át titkolták, illetve letagadták az eredményeket. Felelősök nincsenek.

Nézzük meg, hogy a GM élelmiszerekkel történt „globális kísérlet” alapján milyen következtetések levonására került sor. Egy pro-GM vélemény: „Senkinek sem nőtt négy füle és hat lába.” (No

comment.) Egy anti-GM vélemény: „A gasztrointesztinális és az allergiás megbetegedések egyébként is folyamatosan emelkedő tendenciájában a görbe a GM élelmiszerek megjelenésének megfelelően egy kedvezőtlen törést mutat.” Csak az a baj, hogy senkit sem ismerek, aki ezeket a görbékét látta volna. Saját véleményem a következő: A piacvezető biotech cég felelőtlenül járt el ugyan, az idő teltével mégis egyre inkább úgy látszik, hogy *megúsztuk a dolgot, hisztériakeltésre nincsen ok.* (A tudományos elit egyébként sem ismerne el semmilyen kollektív vagy egyéni felelősséget.) A pro-GM tábor azt mondhatja, hogy „ugye megmondtuk előre”, az anti-GM tábor pedig a Pusztai-féle kísérletekkel hozakodhat elő. A kétféle kísérlet között azonban olyan sokféle különbség van, hogy az ellentmondó eredmények nem feltétlenül zárják ki egymást.

A Pusztai–Ewen kísérlet: visszatekintés

A skót Mezőgazdasági Minisztérium már a kezdet kezdetén jelentős összeget áldozott a genetikai módosítás biztonsági kérdéseire. Számos brit intézmény és kutatócsoport kooperált egy lektingénnel módosított burgonya előállításában és vizsgálatában. A patkányokkal való etetési kísérleteket és az immunológiai vizsgálatokat Pusztai Árpád vezette, a szövettani és morfometriai vizsgálatokat pedig Stanley Ewen végezte. A kísérletek még 1996–98-ban történtek Aberdeenben, de ilyen méretű és mélységű vizsgálat azóta sem történt GM növényvel. Érdeemes röviden *visszatekinteni* ezekre a munkákra, hogy összefoglalhassuk a körülöttük lezajlott nagyon sok vitát, az azóta felmerült újabb szempontokat és az „elvarratlan szálakat”.

Pusztai és Ewen olyan paramétereket követtek nyomon, amelyek a GM élelmiszert fogyasztó embereken nem vagy csak nehezen vizsgálhatók. Azt találták, hogy a GM burgonyát legalább egy héten át és *a diéta nagy százalékában* fogyasztó patkányoknál a gyomor- és bélhámsejtek gyorsabban szaporodtak, minek következtében szignifikánsan megvastagodott a vékonybélben az ún. kriptákat tartalmazó réteg [3]. Ez a bélnek egy jól ismert reakciója mindenféle káros hatással szemben. A morfometriai vizsgálat jelentős gyakorlatot és felkészültséget igényel, ami a jelen esetben megvolt, és az eredményeket Európa vezető orvosi lapjában, a *Lancet* folyóiratban publikálták [3]. Ez a lap szövettani felvételeket nem közöl, a morfometria

alapjául szolgáló képeket a szerkesztőségben letétbe kellett helyezni. Én egy előadáson láttam a kivetített képeket, és számomra ez sokkal meggyőzőbb volt, mint a cikkben közölt csupasz számok. Megfelelő kontrollcsoporttal igazolták, hogy az elváltozásokat nem a transzgen által kódolt lektin okozta, de hogy mi, arra ma sincs válasz. A GM krumpli *hőkezelése után a hatás elmaradt.* Ezt azért hangsúlyozom, mert megszüntetni csak egy ténylegesen létező hatást lehet, nemlétezőnél ez aligha sikerülhet. Sajnos erre a tényre Pusztaiék nem hívták fel a figyelmet, mert ők a veszjelzést tartották elsődleges feladatuknak.

A GM-élelmiszereket hőkezelés után szokták fogyasztani, tehát ez a veszélyforrás jelenleg csupán potenciális. A bél alkalmazkodása sem jelent okvetlenül károsodást; de mi van azoknál, akiknél a bél már nem képes alkalmazkodni? Nem tudjuk, hogy az ember ugyanúgy reagál-e, mint a patkány, mekkora dózison és tartamon reagál, és hogyan reagálnak a társadalom fokozottan sérülékeny csoportjai.

Pusztaiék ugyancsak a *Lancet*-cikkben közölték a bélhámsejtek között előforduló *limfociták* számának szignifikáns növekedését a GM krumplival etetett csoportban. Nem közölték viszont azokat a vizsgálatokat, amelyekben a vérplazmából izolált limfociták *stimulálhatóságának* csökkenését tapasztalták. A csökkenés a háromféle stimulálási szintnek általában csak egyik vagy másik szintjén mutatkozott meg és nem mindig konzekvensen, ezért a későbbi bírálók a kísérleteket „zavarosnak” nevezték.

A legkevésbé meggyőzőek a *belső szervek nedves súlyának* mérési adatai voltak, egyrészt a rossz reprodukálhatóság miatt, másrészt azért, mert ezeket befolyásolhatja a citokinek felszabadulása, a vágás során történő kivérzés mértéke, a maradékvér süllyedése, tehát minden, a keringést befolyásoló tényező. Eleinte sajnos pont ezeket az adatokat kapta fel a sajtó és egyes zöld szervezetek propagandája („a Frankenstein-food agyzsugorodást okoz”).

Tehát minél fenyegetőbbek az elváltozások, a kísérletek bizonyító ereje annál gyengébb. Másrészt viszont növelik a bizonyító erőt *az egyes elváltozások közötti összefüggések.* A legkifejezettebb elváltozások az emésztőtraktusban jelentkeztek, tehát az élelem

bejutásának helyén. Megindult a legreaktívabb limfociták kiáramlása a megváltozott (károsodott?) bélhártya, miáltal a maradék limfociták gyengébben reagáltak. A szervsúlyok változásai közül a hasnyálmirigy (pancreas) növekedése volt megismételhető, összhangban azzal, hogy egyes hatásokra a bélnyálkahártya és a hasnyálmirigy együttesen reagál.

Szekértáborok kialakulása

A pro-GM tábor Pusztait hol nyíltan, hol burkoltan *csalással* vádolta. Egész véletlen, hogy 1997-ben három hetet tölthettem Pusztai laboratóriumában. A GM-mel kapcsolatos munkákban nem vettem részt, mégis betekintést nyerhettem a munkák színvonalába, és csak a legjobbakat mondhatom. Egyébként a kísérleti adatokat a beosztott kutatók „termelték”, a '98 augusztusában rajtaütésszerűen elkobzott kísérleti jegyzőkönyvekben az ellenfelek nem találták csalás nyomait, ez fel sem merült. Az utolsó immunológiai kísérletet az ellenfelek fejezték be, mégpedig az előzőhöz hasonló eredménnyel. A szövettani blokkokat nem tudták ugyan elkobozni, itt azonban a kiértékelés, sőt még a szövettani előkészítés is „vakon” történt.

A Pusztai–Ewen kísérletet *szakmailag* is sokan és hevesen támadták, de a magam részéről egyetlen olyan kritikát sem olvastam, amelyet elfogadhatónak, helytállóknak tekinthetnék. A legtöbb kritika célt téveszt a jól megválasztott kontrollok következtében. *A Pusztai–Ewen kísérletek eredményeit tehát komolyan kell venni*, vitatkozni inkább azon lehet, hogy ezek alapján mit kellene tennünk.

A heves viták miatt feltétlenül szükséges lett volna a kísérletek mások általi *megisméltése* ugyanazzal a génkonstrukcióval, vagy egy másikkal. Ez nem történt meg, hacsak valamelyik biotech cég titokban meg nem tette. Független kutatók be tudnak szerezni ugyan GM növényeket, de a biotech cégek nem árulják el, hogy melyik volt a módosítatlan („szülői”) törzs, tehát nincs meg a megfelelő kontroll, és pénzt is nehezen lehetne szerezni a kísérletekhez. Azonosítani kellene a változásokat létrehozó tényezőt is, amire Pusztainak már nem volt lehetősége.

Nézzük meg röviden a Pusztai–Ewen kísérletekre adott reakciókat. Pusztait azonnali hatállyal eltávolították munkahelyéről, később a feleségét is,

Ewent pedig nyugdíjazták. Ma már jól dokumentált, hogy a legmagasabb rangú politikusok döntöttek egy rájuk nem tartozó tudományos kérdésben [4], és ha meg is kérdezték a tudományos tanácsadókat, ezek különböző szálakon keresztül a biotechnológia gyors sikerében voltak érdekeltek. Szakmai értékelésre már azért sem volt lehetőség, mert a politikusok szinte azonnal reagáltak és utasítottak. Az ő álláspontjukat vette át aztán a különböző országok tudományos elitje is. *A politikának a tudományba való, gazdasági okokra visszavezethető beavatkozása rendkívül veszélyes precedenst teremt* – ezért fogtam én is tollat annak idején [5]. Pusztaiék hatalmas gazdasági érdekeket sértettek, és gyalázatos kampány folyt ellenük, ami ma már jól dokumentálva van [4]. Bár naponta találkozunk a legkétesebb gyógyászati eljárásokkal, például természetfeletti tulajdonságokkal rendelkező vizekből egyedül nálunk négy-ötfélét árusítanak, de más országokban is hasonló a helyzet. A politika csak ott avatkozik be, ahol a tét nagyon nagy. Ugyanakkor *a tudományban az igazság kiderítése nem mellékcél, hanem létkérdés*, nélküle a tudomány üres szertartássá silányulna.

A brit *fogyasztó*, akit épp akkoriban „etettek meg” a BSE „veszélytelenségével” és egy sor más maszlaggal, érezte, hogy a pénz újra fontosabb, mint az egészségkárosodási rizikó, Pusztainak hitt, és mártírnak tekintette őt. Ez a „bumerángthatás” már egymagában is mutatja, hogy *a tudományos és politikai elit rosszul reagált*. A társadalom polarizálódott a hívók és a hitetlenek irányába (az elnevezések felcserélhetők).

Újabb vitaterek

Madách Imre még a Föld kihűlése miatt aggódott, a mai ember a globális felmelegedés miatt. A különbség az, hogy ma az emberek tömegeinek van meg az idejük az aggódásra a különböző káros jelenségek miatt, különösen, ha a tv-műsor is rossz. Nyugaton az aggódó emberek jelentős pénzüsségeket is meg tudnak mozgatni. Ez az aggódás környezetvédelmet, állatvédelmet és sok más hasznos dolgot eredményez, most azonban a vadhajtásokkal szeretnék foglalkozni.

Közhely elmondani, hogy korunkban rendkívül felgyorsult a tudomány és a civilizáció fejlődése. Amikor még az egyetemi oktatók sem képesek követni a tudomány új eredményeit, a laikus ment-

hetetlenül lemarad, és nosztalgiával tekint vissza az elmúlt világra, ahol olyan szépen, csendesen lehetett élni. Szeretné megállítani a száguldó lovakat, mert az árokba fogják borítani a kocsit! Sokan várják azt a szakembert, aki pont azt fogja mondani a világról és a tudományról, amit ők szeretnének (*wishful thinking*). *Ha emberek tömegei várják a „megváltást”, akkor a „messiások” meg is jelennek.* Ezeknél a „messiásoknál” felismerhetők bizonyos közös vonások: jelentős tudományos képzettséggel rendelkeznek, de valamilyen ok folytán kikerültek a mai, erősen kompetitív tudományos élet periferiájára. Nem remélhetik *grantok* elnyerését, nem tartoznak kutatócsoportokhoz vagy intézményekhez (legfeljebb az ajtajukra írnak ki egy hangzatos intézménynevet), kimaradnak a kísérletes munkákból, viszont hozzájutnak a szakirodalomhoz, amit a kívülálló sértődöttségével értelmeznek és kritizálnak. A modern tudományt léggömbnek tekintik és egy gombostű segítségével próbálnak a tudomány élvonalába kerülni, ami nagyon csábító lehetőség.

Amennyiben megvan a normális életvitelünkhöz szükséges jövedelmünk, akkor az emberiség megmentőjének lenni sokkal nagyobb kielégülést jelent, mint egy lottófőnyeremény. Az egyik ember a szörnyű GM-veszedelemtől próbálja megmenteni az emberiséget, a másik pedig épp a GM-ben látja az éhező gyermekek százmillióinak megmentési lehetőségét. A pro-GM messiások feltupírozzák a növényi biotechnológia eredményeit, az anti-GM messiások szerint pedig az amerikai farmer pusztán a biotech cégek általi reklámnak dől be. Erről azonban nem a farmert igyekeznek meggyőzni, (kutyát uszítana rájuk), hanem főként a nagyvárosi széplelkű úriasszonyokat.

Bármennyire sikeressé vált is a növényi biotechnológia, a fejlesztéseknél sok a rossz hatásfokú, a nagyszámú selejtet eredményező lépés, továbbá a genomba való beépülés irányíthatatlansága is problémát jelent. Az elkészült GM termékek sem hoznak mindig gazdasági sikert. A frusztrált szakemberek mindebből azt a következtetést vonják le, hogy az összes problémának egyetlen közös oka van, mégpedig az, hogy (*szerintük*) *tévesek a biotechnológia molekuláris alapjai*. Szerintük az elfogadott nézeteket megcáfolja az alternatív *splicing*, a DNS metilezése és a humán genom projekt sokféle eredménye. De hogy a régi ismeretek helyett milyen működőképes, új rendszer képzelhető el, arról böl-

cse hallgatnak. Akár a népmesében, egyik is, másik is hozzátesz valamit vagy csavarint egyet a dolgokon. Mindezt aztán visszavetítik a GM élelmiszerek biztonságosságára, és a végeredmény – még a legfinomabban fogalmazva is – *„tévedésekre alapozott hisztériakeltés”* lesz. Úgy gondolják, hogy sikerül kihúzni a szőnyeget a biotechnológia hatalmas agyagbálványa alól, és az recsegve-ropogva fog összeomlni az ölében tartott biotech cégekkel együtt. A valóság azonban az, hogy a modern tudomány különböző részei *szövedékszerűen* annyi szálal kapcsolódnak egymáshoz, hogy lehetetlen egyes részeket önkényesen kiemelni vagy eltávolítani, de különösen nem lehet ezt megtenni a cáfolásra hivatott kísérletes bizonyítékok nélkül. A tudomány fejlődése során valóban el kell távolítani néhány szüette gerendát, de nem ez a jellemző, hanem inkább az, hogy a meglévő szilárd alapokra egyre újabb tudományterületek épülnek.

Előző cikkemben [5] én is hozzájárultam egy népmese terjesztéséhez: felejtjük el, hogy a növényi biotechnológiában általánosan használt CaMV 35S promóter majdnem azonos lenne a hepatitis B vírus promóterével (*mea culpa*)!

Gazdasági kérdések

A fogyasztótól nem várható, hogy eligazodjon azokban a tudományos kérdésekben, ahol adatok híján még a szakemberek sem mindig tudnak egy-egy álláspontot kialakítani. Ugyanakkor azonban *a fogyasztó is hisz valamit*, és eszerint vásárol, ha egyáltalán van választási lehetősége. Tegyük félre ezért most a biztonsági kérdéseket, és legyen vizsgálatunk tárgya a termelő, a vásárló és az országhatár.

A jogi akadályok megszüntével az EU fokozatosan be fogja engedni a GM élelmiszereket, és engedélyezni fogja a GM növények termesztését is. Az egyes tagországok hozhatnak ugyan az EU-szabályoknál szigorúbb rendelkezéseket, de enyhébbeket nem. Hazai kukoricatermesztésünk és a nagyon kis szójatermesztésünk organikus (GM-mentes) vetőmagon alapul, viszont a takarmányozási célra importált amerikai szójabab nagyrészt GM. Ez a rendszer egyrészt biztosítja az állattartáshoz szükséges fehérjetakarmányt (a kukorica és a gabona kiegészítésére), másrészt termékeink garantált GM-mentessége előnyt biztosít az igényesebb piacokon. Az egyik külföldi cég például biztonságosabbnak látta, hogy az egyik nyugati országból hazánkba

hozza kukorica-vetőmag termesztését. Tehát a jelenlegi GM-mentességünk bizonyos gazdasági előnyökkel jár, ami a későbbiekben vagy javul, vagy eltűnik. „Szüzességünket” könnyen és vidáman elveszthetjük, de nagyon nehéz visszaszerezni. Kérdés, hogy melyik helyzetben lesz előnyösebb a fekvésünk. Mindenesetre egy „GM-Európában” aligha leszünk képesek megőrizni mentességünket, a GM vetőmag illegálisan is könnyen bekerülhet az országba.

Egyik anti-GM szakemberünk hívta fel a figyelmet arra, hogy nálunk nem azonos a kukoricamoly elterjedtsége, mint az Egyesült Államokban, az ottani előnyök ismételtetésére tehát nincs garancia. A biotech cégek nyilván már rendelkeznek

ittthoni kísérleti adatokkal. A GM-növények palettája egyébként jóval szélesebb annál, minthogy a rovarellenes hatásra korlátozódna, és ez a paletta egyre bővül.

Irodalomjegyzék

- [1] Hoffmann-Riem, H., Wynne, B. (2002) In risk assessment, one has to admit ignorance. *Nature*, **416**: 123.
- [2] Hall, L., Topinka, K., Huffman, J., Davis, L., Good, A. (2000) Pollen flow between herbicide-resistant *Brassica napus* is the cause of multiple-resistant *B. napus* volunteers. *Weed Science*, **48**: 688–694.
- [3] Ewen, S.W.B., Pusztai, A. (1999) Effect of diets containing genetically modified potatoes expressing *Galanthus nivalis* lectin on rat small intestine. *Lancet*, **354**: 1353–1354.
- [4] Rowell, A. (2003) Don't worry, it's safe to eat. *Earthscan Publications Ltd.*, London-Sterling.
- [5] Baintner, K. (1999) A genetikai módosítás és a félremódosított tájékoztatás. *Biokémia*, **XXIII**: 64–67.

Baintner Károly

A GENETIKOK MEGOLDÁSA :

Új, LABSYSTEMS elektromos
Novus pipetta
bevezető áron 84 990 Ft-ért!

Megnyerő áron, 15%-kal
olcsóbban juthat hozzá
a CLP egyes termékeihez:
filteres hegyek, gumikesztyűk
és PCR csövek!

Focus pipetták csomagban
99 000 Ft-os, akciós áron!

Jelölt oligot szeretne kedvező
áron? Most 5% kedvezményel
vásárolhat az IDT termékeiből.



BIO-SCIENCE



PROMEGA restriktív enzimek,
Cell Based Assay-k
25%-kal csökkentett áron!

Minden BIOPOLYMERS
peptidszintézis rendelésnél
25 000 Ft-ot nyer!

Új NUAIRE CO₂ inkubátor
(DH Autoflow 5510)
most 15% árengedménnyel!

Laptop vagy PC és 50 db
microplate jár ajándékba
LABSYSTEMS fluori-, lumino-,
spektrofotométer
vagy ELISA leolvasókészülékekhez!

A részletekről érdeklődjön irodánkban!

1119 Budapest, Andor u. 47–49. Tel.: 463-5077, Fax: 463-5261
E-mail: bio-sci@bio-science.hu, www.bio-science.hu



ÁLLÁSHIRDETÉS

A Semmelweis Egyetem Élettani Intézet munkatársat keres PhD-hallgató vagy tudományos segédmunkatársi beosztásba. Preferált végzettség: általános orvos, fogorvos, gyógyszerész vagy biológus. Kutatási téma: GTPáz aktiváló fehérjék élettani szerepe és szabályozása. A témával kapcsolatos eredményekről szóló publikációk a http://www.sote.hu/intezetek/kutatas/?inst_id=10&page_id=5 internetes címen találhatóak. Jelentkezés: Dr. Ligeti Erzsébet egyetemi tanárnál (ligeti@puskin.sote.hu)



a. BD Falcon™ 96-,
384- and 1536-well
Assay Plates

b. BD BioCoat™ HTS
Caco-2 Assay System

c. BD Falcon Flasks

d. BD Falcon Tubes

e. BD Falcon PCR Labware
and Accessories

f. BD BioCoat
Osteologic™ Bone Cell
Culture System

g. BD Falcon Pipets

h. BD BioCoat Cultureware

i. BD Oxygen Biosensor
Systems

j. BD Falcon Cellware

k. BD Falcon FluoroBlok™
Insert Systems

l. BD Falcon TufRol™
Roller Bottles and
BD Cell MAb Medium

m. BD BioCoat Assay Plates

n. BD Cell Culture Reagents

o. BD Falcon and BD
BioCoat Culture Slides

p. BD Falcon Express
Pipet-Aid

Kérje részletes katalógusunkat!

Rendelésfelvétel:

Novo-LAB

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



Certificate HU03/0267

Génextpresszió

- Validált TaqMan® "assay" (primer-próba mix): 40000 gén közül választható
- Tervezés bármely régióra
- <http://myscience.appliedbiosystems.com/>



Harmadik generációs "real-time" PCR készülékek



7900HT System



7500 System

- TaqMan® Kis Densitású Génextpressziós Array:
 - 1 µl térfogatú reakciók
 - 12-380 gén/kártya, választható gének
 - 8-800 ng total RNS/380 gén
- 96 és 384 mintahelyes blokk

- Jövőbeli nagysebességű PCR blokk
- 96 mintahelyes blokk
- 9 log lineáris dinamikus terjedelem
- Tetraplex reakciók lehetősége

Szoftver

- Egyszerű kísérlet tervezés
- Akár 10 plate egyidejű analízise
- Automatikus expressziós mintázat megjelenítés

