

BIOKÉMIA

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

Szerkesztőbizottság:
BENYHE SÁNDOR, ERDŐDI FERENC, GERGELY PÁL,
HUDECZ FERENC, NYESTE LÁSZLÓ, NYITRAY LÁSZLÓ, SARKADI BALÁZS,
SÜMEGI BALÁZS, VÁRADI ANDRÁS

Felelős szerkesztő:
SZÉKÁCS ANDRÁS

XXXI. ÉVF. 4. SZÁM

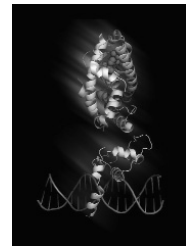
2007. DECEMBER

A tartalomról:

- ◇ A transzkripció szabályozás dinamikus arca – *Brázda Péter, Szekeres Tibor, Vámosi György és Nagy László*
- ◇ Fitoalexinek mint növényi antimikrobiális vegyületek és a növényi betegség-ellenállóság – *Érsek Tibor*
- ◇ A víz mint biomolekula – *Dombrádi Viktor*
- ◇ Mennyei kapcsolatok – *Szarka Ernő*

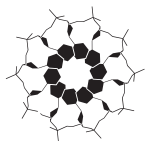
Címlapkép:

A válaszadó eleméhez kapcsolódó magreceptor (D-vitamin-receptor). A ligandumkötő domén 12-es hélice (sárga színnel kiemelve), amint az agonista ligandum (pirossal jelölve) kötődését követően lezárja a ligandumkötő zsebet. A jelenleg kibontakozóban lévő elképzelések szerint a magreceptorok és a válaszadó elemek közötti dinamikus kölcsönhatások eredményeként a receptorok folyamatosan tesztelik (scanning) a potenciális válaszadó elemeket (ld. a vonatkozó közleményt a 74–81. oldalakon).



Contents:

- ◇ The dynamic face of transcriptional regulation – *Péter Brázda, Tibor Szekeres, György Vámosi and László Nagy*
- ◇ Phytoalexins as anti-microbial compounds associated with the disease resistance response of plants – *Tibor Érsek*
- ◇ Water as a biomolecule – *Viktor Dombrádi*
- ◇ Heavenly connections – *Ernő Szarka*



MAGYAR
BIOKÉMIAI
EGYESÜLET

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

Az engedély száma: III/SZI/397/1977 HU ISSN 0133-8455
Készíti és terjeszti a **dART studio** (1137 Budapest, Újpesti rakpart 6. Tel.: 349-3426)
Ára • a Magyar Biokémiai Egyesület tagjai részére: tagdíj ellenében,
• nem egyesületi tagoknak: 750 Ft + postaköltség

WEBio
BioScience Portal

A transzkripció szabályozás dinamikus arca

The dynamic face of transcriptional regulation

Brázda Péter¹, Szekeres Tibor²,
Vámosi György², Nagy László^{1,3}

Debreceni Egyetem, Orvos- és Egészségtudományi Centrum,

¹ Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet,

² MTA – Debreceni Egyetem Sejtbiológiai és Jelátviteli Kutatócsoport, ³ MTA – Debreceni Egyetem Apoptózis és Genomika Kutatócsoport, 4012 Debrecen, Nagyerdei krt. 98.

Összefoglalás

A magreceptorok szupercsaládjába olyan transzkripció faktorok tartoznak, melyek ligandumfüggő módon képesek szabályozni célgénjeik átíródását. Kulcsszerepet játszanak olyan alapvető biológiai folyamatokban, mint a növekedés, az egyedfejlődés vagy a homeosztázis fenntartása. A működésüket leíró általános modell alapján ligandum hiányában korepresszormolekulát és a represszorkomplex további tagjait kötik magukhoz, így a szabályozásuk alatt álló célgének kifejeződése nem történik meg. Agonista/aktiváló ligandum hatására konformációváltozáson mennek keresztül, ami a represszorkomplex leválását, a koaktivátor- és az aktivátor-komplex kötődését, majd a célgén átíródását váltja ki. Ezt a folyamatot írja le a molekuláris kapcsolómodell, ami egy kétállású, viszonylag statikus rendszer képét vetíti fel. A modern biofizikai módszereknek és a mikroszkóptechnika fejlődésének köszönhetően olyan alkalmazások kerültek a molekuláris biológia fegyvertárába, melyekkel egyre jobb időbeli felbontással vizsgálhatók a transzkripció szabályozásban részt vevő fehérjék kölcsönhatás-változásai, s a korábbi statikus modellt egyre inkább egy rendkívül dinamikus rendszer képe kezdi felváltani.

Brázda, P.¹, Szekeres, T.², Vámosi, Gy.²,
Nagy, L.^{1,3}

University of Debrecen, Medical and Health Centre, ¹ Institute of Biochemistry and Molecular Biology, ² Cell Biology and Signal Transduction Research Group, ³ Apoptosis and Genomics Research Group, Hungarian Academy of Sciences – University of Debrecen, H-4012 Debrecen, Nagyerdei krt. 98, Hungary

Summary

Nuclear receptors are transcription factors that regulate gene expression in a ligand-dependent manner. They play key roles in several basic biological processes such as growth, differentiation and maintenance of homeostasis. According to the current general model of nuclear receptor action, in the absence of ligand, co-repressor and other members of the repressor complex are bound to the receptor, keeping the target gene silent. However, in the presence of an agonist ligand, co-regulator exchange takes place, which means that the repressor complex is released and co-activator with members of the activator complex takes its place. This regulator exchange results in activation of target gene expression. This process is viewed as the molecular switch model, which represents two distinct states of a rather static system. Due to modern biophysics and the evolution of microscope technology, new applications became available in the field of molecular biology, which made it possible to investigate transcriptional regulation at increasingly higher time resolution. As the result of these experiments the earlier static model is being replaced by a rather dynamic one.

A sejtmagreceptor-biológia kezdetei

1896-ban Beatson jegyezte le, hogy azon előrehaladott mellrákban szenvedő betegek állapotában, akiknél eltávolították a petefészkeket, jelentős javulást tapasztaltak. Ezzel gyakorlatilag felfedte az ösztrogén mellrákra gyakorolt stimuláló hatását, jóval azelőtt, hogy magát a hormont leírták volna

[1]. Később, 1962-ben Jensen azt is leírta, hogy ezek a hormonok a sejtekben található fehérjékhez kötődnek, melyek azután a sejtmagba vándorolva fejtik ki hatásukat [2]. Az ösztrogénreceptor (ER) működésének modellje annyira újszerűnek bizonyult, hogy csak fokozatosan vált elfogadottá. A felfedezés azonban tudományos mérföldkőnek számít.

Evans és Chambon nevéhez köthető az első magreceptor, a glükokortikoidreceptor (GR), majd az ER klónozása [3]. Ezek az eredmények indították el azt a folyamatot, mely során az 1980-as évek végéig számos további magreceptort azonosítottak homológia alapján. Majd az azonosított receptorokhoz egyre több endogén ligandumot is kötöttek, így adoptálódtak a kezdetben ismeretlen ligandummal rendelkező „árva” receptorok. A genomprojekteknek köszönhetően ma már tudjuk, hogy a *Caenorhabditis elegans* génállománya 270, a *Drosophila melanogaster* 21, az egéré 49, az emberé pedig 48 különféle magreceptort kódol. A szekenciavizsgálatokból kiderült, hogy ezek a fehérjék jelentős mértékben konzerváltak, ami azt jelenti, hogy a magreceptorok a többsejtűek törzsfejlődésének igen korai szakaszán jelenhettek meg, és valamennyi törzsben megtalálhatók [4].

A receptorok általános jellemzői

A magreceptorok szupercsaládjába olyan transzkripciósfaktorok tartoznak, melyek ligandumfüggő módon képesek szabályozni – aktiválni vagy gátolni – célgénjeik átíródását. Természetes ligandumaik közé kisméretű molekulák tartoznak, mint például a lipiddoldékony szteroid hormonok, a reti-

noidok és egyes metabolitok, amelyek szabadon képesek átdiffundálni a sejtmembránon. Az „árva” receptorok adoptálása során egy sor kis affinitású ligandum került azonosításra. Ezek között többszörösen telítetlen, illetve oxidált zsírsavak, sőt xenobiotikumok is vannak. Ezek a fehérjék képesek a hormonok vagy metabolitok által hordozott információt közvetlenül a genomhoz továbbítani. Kulcs szerepet játszanak olyan alapvető biológiai folyamatokban, mint a növekedés, az egyedfejlődés vagy a homeosztázis fenntartása [5]. Ezt a szerteágazó fehérjecsaldót két csoportra oszthatjuk élettani szerepük és működésük alapján. Az első csoportba azok a receptorok tartoznak, amelyek specifikus, nagy affinitású ligandumokat kötnek ($K_d \sim 10^{-9}$ M). Ezen „endokrin receptorok” közé tartoznak a szteroid hormonok receptorai, a már említett ER vagy az androgénreceptor (AR). A másik csoportba, a „metabolitreceptorok” csoportjába tartoznak azok a magreceptorok, melyek alacsony affinitású ligandumokat kötnek ($K_d \sim 10^{-6}$ M). Ilyenek például a peroxiszóma proliferátor aktivált receptorok (PPAR), melyeket különböző zsírsavak aktiválnak, az oxiszteolok által aktivált máj-x-receptorok (LXR), a retinsavreceptor (RAR) és a retinoid-x-receptor (RXR).



Brázda Péter PhD-hallgató a Debreceni Egyetem Természettudományi Karán végzett biológusként 2005-ben. 2002-ben tudományos diákkörösként csatlakozott a DE Orvos- és Egészségtudományi Centruma Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézetének Nagy László által alapított Magreceptor Kutatócsoportjához, ahol 2005 óta PhD-hallgatóként folytatja tanulmányait. Jelenleg magreceptorok és koregulátoraik kölcsönhatásának *in vivo* körülmények között történő vizsgálatával foglalkozik.

Szekeres Tibor biológushallgató jelenleg az MTA-DE Sejtbiológiai és Jelátviteli Kutatócsoportjának tudományos diákkörös hallgatója. Tudományos érdeklődési területe: a magreceptorok működésének vizsgálata modern biofizikai módszerekkel.



Vámosi György tudományos főmunkatárs. Okleveles fizikusként végzett a Kossuth Lajos Tudományegyetemen 1991-ben, PhD-fokozatát a Debreceni Orvostudományi Egyetemen szerezte 1999-ben. 1991 és 1995 között a göttingeni Max Planck Intézetben DNS-struktúrák fluoreszcenciás vizsgálatával foglalkozott, 1995-től a Debreceni Egyetem Biofizikai és Sejtbiológiai Intézetének, 2006-tól az MTA-DE Sejtbiológiai és Jelátviteli Kutatócsoportjának tagja. Jelenlegi szakterülete fehérje–fehérje kölcsönhatások vizsgálata limfociták plazmamembrán-receptorai között (például IL-2/15R, illetve MHC-molekulák alkotta szuperklaszterekben), ezek szerepe a

transzmembrán jelátvitelben; továbbá kölcsönhatások dinamikájának vizsgálata magreceptorok, transzkripciósfaktorok között; fluoreszcenciamikroszkópiás és -spektroszkópiás módszerek: FRET, FCS fejlesztése és alkalmazása.

Nagy László egyetemi tanár, az MTA levelező tagja a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centruma Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézetében a Magreceptor Kutatócsoportot vezeti 1999 óta. Orvosként végzett 1991-ben a Debreceni Orvostudományi Egyetemen, majd hét éven át posztdoktori tanulmányokat folytatott az Egyesült Államokban, Houstonban és San Diegóban. 1999-ben tért haza és indította el itthoni kutatócsoportját. Érdeklődési területe a magreceptorok biokémiája, molekuláris és sejtbiológiája, valamint a transzkripció genomszintű vizsgálata.

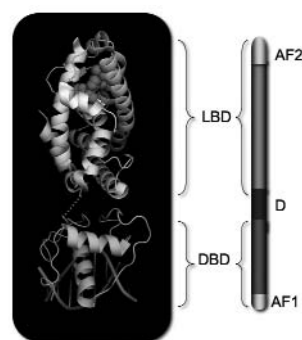


Szerteágazó és központi biológiai szerepüknek köszönhetően a magreceptorok a gyógyszerkutató elsődleges célpontjai között szerepelnek. Ezért lényeges, hogy megértsük azon folyamatokat, melyek során az inaktív, gátolt állapotban lévő receptor aktív állapotba kerül. A következőkben azon biokémiai, illetve biofizikai módszereket és az ezek felhasználásával született alapvető fontosságú eredményeket mutatjuk be, melyek hozzájárulnak, hogy egyre pontosabban átláthassuk ennek a komplex rendszernek a működését.

Doménszerkezetük

Néhány kivételtől eltekintve valamennyi magreceptor hasonló doménszerkezettel bír (1. ábra). Az N-terminális végen helyezkedik el a nem ligandumfüggő aktivitásért felelős (*activation function 1*, AF1) A/B-domén. Ezt követi a magreceptorok között legmagasabb fokú konzerváltságot (kb. 90%) mutató DNS-kötő domén (DBD). A 75–90 aminosavból felépülő egység két darab, egyenként 4–4 konzervált ciszteint tartalmazó Zn-ujjal rendelkezik. Itt található az a hélix, amely a DNS nagyárához képes kötődni, miután felismerte a magreceptor-specifikus válaszadó elemet (RE). A konszenzus válaszadó elem 5'-A/GGGTCA (fél szekvencia) sokszor több száz kilobázissal a transzkripció starthely előtt helyezkedik el direkt ismétlődéses, palindrom vagy inverz palindrom pozícióban, lehetővé téve ezáltal a specifikus receptor homovagy heterodimerek kötését. A D-régió flexibilis híd képez a DBD és a ligandumkötő domén (LBD) között. Az LBD valódi multifunkciós domén. Ide köthető a ligandumkötésen túl a ligandumfüggő transzkripció aktiválás (*activation function 2*, AF2), a dimerképzés, valamint a koregulátorkötés is. Ez az egység 12 hélixből épül fel, melyek három párhuzamos síkba rendeződnek [4]. Csak a DBD és az LBD kristályszerkezetét ismerjük, a teljes fehérje szerkezetét még egyik magreceptor esetében sem sikerült feltárni. Ezekből a kristályszerkezeti eredményekből tudjuk azt, hogy az LBD két félre osztható. Az alsó fél belsejében egy apoláros környezet biztosító üreg, a ligandumkötő zseb (LBP) található. Érdekes módon erre a konzervatív szerkezetet mutató régióra igen nagyfokú variancia is jellemző, ami a zseb méretének és kötőfelszínének változatosságából adódik. A nagyméretű zsebek – mint amilyen a PPAR γ is rendelkezik – azt ered-

ményezik, hogy ugyanaz a receptor többféle, kémiaiag eltérő ligandumot képes megkötni. Ezzel szemben a Nurr1 receptor kristályszerkezetét tanulmányozva kiderül, hogy nem rendelkezik ligandumkötő zsebbel, és valószínűleg nincs endogén ligandumuk. Ezek az „árva” receptorok nem az ismert mechanizmust követve működnek. A ligandumkötő zsebet a 12-es hélix (H12, az apo-RXR kristályszerkezte alapján) fedi le. A H12 kulcsszerepet játszik abban, hogy a magreceptorok molekuláris kapcsolóként működhessenek [6]. A magreceptor és válaszadó eleme közötti kötődést a D-vitamin-receptor esetében a 2. ábra mutatja be.



1. ábra A magreceptorok doménszerkezete. Az N-terminális vég felől: a válaszadó elemhez kapcsolódó DNS-kötő domén (DBD), híd régió (D), ligandumkötő domén (LBD) az aktívált pozícióban lévő H12 hélixszel (AF2) és a ligandumkötő zsebbel kötődött agonista ligandummal. (Szaggatott vonal ábrázolja a híd régiót; mivel technikai okok miatt a teljes hosszúságú receptor nem kristályosítható, ezért az LBD és a DBD kristályszerkezeti képei csak külön-külön ismertek.)

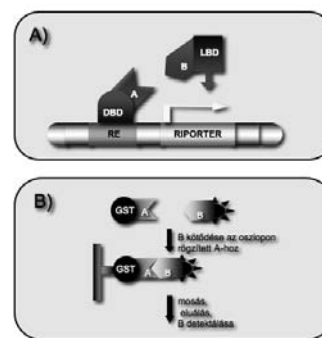
2. ábra (lásd a címlapon) A válaszadó eleméhez kapcsolódó magreceptor (D-vitamin-receptor). A ligandumkötő domén 12-es hélice (sárga színnel kiemelve), amint az agonista ligandum (pirossal jelölve) kötődését követően lezárja a ligandumkötő zsebet. A jelenleg kibontakozóban lévő elképzelések szerint a magreceptorok és a válaszadó elemek közötti dinamikus kölcsönhatások eredményeként a receptorok folyamatosan tesztelik (scanning) a potenciális válaszadó elemeket.

Dimerek, koregulátorok

A magreceptorok működésének megértéséhez szükséges további két jellegzetesség ismerete. Az egyik, hogy ligandumot kötő állapotban – kevés kivételtől eltekintve – dimereket képeznek. A dimerek a különböző hosszúságú szakaszokkal elválasztott dimerspecifikus fél kötőhelyekhez kötődnek. Alkothatnak így egyrészt homodimereket, mint például a GR, vagy az ER, illetve RXR-rel heterodimereket is, mint az RAR és a PPAR. Az RXR tehát központi szereppel bír a magreceptorok egy

csoportjában, mivel promiszkuus heterodimerizáló partnereként viselkedik. Az RXR-heterodimerek lehetnek permisszív heterodimerek, ha mindkét receptor oldaláról aktiválhatók (például RXR:PPAR), ellentétben a nem permisszív heterodimerekkel (például RXR:RAR), melyek kizárólagosan az RXR oldaláról nem, csak a partner oldaláról, illetve pánagonista ligandummal aktiválhatók. A másik lényeges jellemző a koregulátorok kötése. A magreceptorok a környező kromatinstruktúrára koregulátorokon keresztül fejtik ki hatásukat. Jelenleg több száz ilyen koregulátort ismerünk, melyek hatalmas fehérjekomplexeket képezve egyrészt hidat jelentenek a magreceptorok és a transzkripció gépezet között, másrészt megvalósítják azt a fajta finoman hangolt kombinációs szabályozást, ami a receptorok sokrétű szerepének az alapja. Funkciójukat tekintve lehetnek korepresszorok és koaktivátorok. Korepresszor például a 270 kDa méretű SMRT, ami olyan molekulakomplexek tagja, amelyek például a hisztonok N-terminális lizinjének deacetilálása révén gátolják a célgén átíródását. A koaktivátorok közé tartozik például a DRIP/TRAP komplex. Ebben az esetben is nagyméretű, 14-16 fehérjéből álló komplexről van szó. A komplex tagjai hiszton-acetiltransferáz enzimatis aktivitással rendelkeznek, ami lehetővé teszi az aktív kromatin kialakítását, ezáltal a célgén átíródását [4].

A korepresszor- és koaktivátor-komplexek specifikusan képesek kötődni a magreceptorok LBD régiójához. A kölcsönhatás a koaktivátorok esetében az LxxLL, korepresszorok esetében az LxxxIxxxI/L motívumon keresztül történik (*receptor interaction domain*, RID). Az LBD mutációs feltérképezése azt a meglepő eredményt hozta, hogy a korepresszor és a koaktivátor interakciós felszínéhez kapcsolódó kötőhelyek nagymértékben átfednek egymással a magreceptoron. Ez azt jelentheti, hogy a koregulátorkötés kizárólagos, egyszerre csak egy molekula kapcsolódhat az LBD-hez. Így azzal, hogy az LBD-hez koaktivátor vagy korepresszor kötődik, lényegében eldől a „molekuláris kapcsoló” állása. Ezen a jelenségen alapul a magreceptorok működését leíró kapcsolómodell (3. ábra). A modell megalkotását elősegítette, hogy mind több kristályszerkezeti kép készült különböző receptorok LBD régiójáról ligandumkötő és apo-konformációban, valamint komplexben a koregulátorok interakciós doménjét képviselő peptidszakaszokkal [6]. Olyan kristályszer-



3. ábra A molekuláris kapcsoló-modell kidolgozásához vezető kísérleti rendszerek. (A) A kéthibrid rendszerben lehetséges fehérje–fehérje és fehérje–DNS kölcsönhatások vizsgálata. A rendszer működésének alapjelensége a riportter gén (például a luciferázgén, melynek terméke a luciferint detektálható fényjelenség mellett módosítja) aktiválása abban az esetben, ha a transzkripció faktor az aktivátorrégióhoz kötődik. Az elnevezés onnan ered, hogy a transzkripció faktort két részre bontva alkalmazzuk. A DNS-kötő félhez van kapcsolva a „csali” (A) fehérje, a transzaktívációs képességgel bíró félhez pedig a „zsákmány” (B). Ha a csali–zsákmány pár kölcsönhatásba lép egymással, az azt eredményezi, hogy az aktiváló domén a válaszadó elemhez kötődik a csalifehérjén keresztül, így a riportter gén kifejeződik. Ezt az alapelvet felhasználva a módszer alkalmas a magreceptorok ligandumfüggő transzaktívációs képességének vizsgálatára, a koregulátorcsere tanulmányozására, valamint promotértérképezésre is, attól függően, hogy milyen egységekből építjük fel. (B) A GST (glutathion-S transferáz) pull-down módszerben a GST-fúziós csalifehérje glutationon keresztül kikötődik egy specifikus oszlopra. Az izotóp beépítésével, *in vitro* transzlált zsákmányfehérje is átáramlik az oszlopon. Azonban ha van affinitás a két fehérje között, akkor az izotóppal jelölt fehérje is kikötődik az oszlopra, ellentétben a többi fehérjével. A kötődött fehérje detektálásán keresztül vizsgálható, hogy különböző ligandumkezelések milyen hatással vannak a fehérjepartnernek kölcsönhatására, és mutagenézis segítségével a kölcsönható felszínek térképezhetők.

kezeti modell azonban, amely a teljes hosszúságú receptort tartalmazná, eddig nem készülhetett el technikai okok miatt. A működés háttérben álló fehérje–fehérje és fehérje–DNS kölcsönhatások változását élesztő-, majd fehérje-kéthibrid technikával, valamint GST-fúziós fehérjék kifejezésével tanulmányozták. Az így kirajzolódó egyszerű, kapcsolómodell lényegében az LBD felszínén lezajló koregulátorcsere írja le. Ennek alapján az apo-receptor korepresszort és ezen keresztül a represszorkomplex további tagjait köti. A célgén átíródása ekkor nem történhet meg, mivel a régió gátolt állapotban van. Agonista ligandum hatására azonban a represszor leválik a magreceptorról, és helyére koaktivátor, valamint az aktivátorkomplex további tagjai kötődnek. Ezek alakítják ki azt a kromatinkörnyezetet, ahol lehetővé válik a célgén aktiválása, átíródása.

A magreceptor-működést leíró modellek (mozgolódó magreceptor-kutatás)

Egy statikus modell: a molekuláris kapcsoló

De miként dönt az LBD arról, hogy melyik típusú koregulátort kösse? Milyen molekuláris folyamatok állnak a kapcsoló működése mögött? A rendelkezésre álló kristályszerkezeti képek alapján a koaktivátor interakciós domén (ID) a receptor 3-as, 4-es és 12-es hélixekhez kötődik (H3, H4, H12), mégpedig olyan módon, hogy a H12 pozíciója egy töltéscsapidán keresztül elősegíti ezt a kölcsönhatást. Ez a H12 aktív pozíciója a holo-receptor esetében, azaz, amikor az agonista ligandum a ligandumkötő zsebben ül. A H12 mint egy egérfogó karja, lényegében lezárja ezt a zsebet, stabilizálva a koaktivátor kötődését (2. ábra). Ezzel szemben – bár a korepresszor is ugyanahhoz a régióhoz kötődik az LBD-n – a hosszabb ID-régióknak köszönhetően a H12 nem tudja felvenni az aktív pozíciót. Ez a ligandum által vezérelt koregulátorcsere a kapcsoló működésének alapja. Proteolízis-szenzitivitás és NMR-vizsgálatok világossá tették, hogy a ligandumkötés stabilizálja az LBD-t, egy kompaktabb konformációt hozva létre. Apo-PPAR magreceptoron végzett fluoreszcencia-anizotrópiás vizsgálatok alapján a H12 rendkívül mobilis, és mobilitása független a domén többi részétől. Ligandumkötés után azonban ez a dinamika jelentősen mérséklődik, alátámasztva azt az elképzelést, hogy ekkor a 12-es hélix felkötődik az LBD felszínére, felvéve aktív pozícióját. A ligandum tehát két úton is stabilizálja a receptor aktív konformációját. Egyrészt közvetlenül is kapcsolódik a H12 hélixhez, másrészt az egész LBD konformációjára hatással van, mivel kompaktabbá teszi azt, ezzel is elősegítve a kialakult aktív konformáció stabilizálását. Ligandum hiányában viszont a bekötődő korepresszor nagyobb méretű ID-jének köszönhetően a H12 nem foglalja el aktív pozícióját, és az apo-konformáció stabilizálódik. Megjegyzendő azonban az is, hogy a jelen lévő koregulátorok egymáshoz viszonyított aránya is befolyásolja a koregulátorcserét.

Lendületben: új alkalmazások, új modellek

ChIP. A molekuláris kapcsoló modellje alapján egy viszonylag statikus rendszer rajzolódik ki előttünk, melyben a transzkripció szabályozásának kulcsát a különböző hatással bíró fehérjekomplexek és a kro-

matin kölcsönhatásai jelentik. Ez a modell azonban nem tér ki a folyamatok kinetikájára, ugyanis a modellhez vezető módszerek alkalmatlanok a transzkripció szabályozás időbeli lefolyásának vizsgálatára. Ilyen irányú vizsgálatokat tesz lehetővé a kromatin-immunprecipitáció (ChIP) és módosított formáinak alkalmazása. Az eljárás alaplépései a következők: 1) a szövet vagy sejtek, a DNS-fehérje és fehérje-fehérje komplexek formaldehiddel történő keresztkötése, 2) a kromatin fragmentálása, 3) a kromatinfragmentumok immunkicsapása magreceptor-, illetve koregulátorspecifikus antitestekkel, 4) a keresztkötések feloldása, 5) a promóter DNS detektálása. Az antitestek specifikitásának javítása és PCR technikák alkalmazása nagyban növelték a módszer hatékonyságát, még pontosabbá téve a promóter régió feltérképezését. Az időfüggés vizsgálatát a Shang által alkalmazott „kinetikus ChIP” módszer [7] tette lehetővé. Ezzel ugyanis kimutathatóvá vált a pS2 és a cathepsin D promóterén felépülő ER-kötött transzkripció komplex össze rendeződése szinkronizált sejt populációban [8]. Két érdekes eredményt is hoztak ezek a kísérletek. Az egyik, hogy az egyes komplexek promóterkötése átfed. Az aktiváció bekövetkezéséhez szükség van a korepresszorok jelenlétére is.

Nem áll ez ellentétben azzal a koncepcióval, amit a kéthibrid-kísérletekből születő kapcsolómodell leír? A legérdekesebb észlelés pedig csak ezután következett. Ösztrogén, azaz az agonista ligandum hiányában az ER promóterkötése jellegzetes ciklikusságot mutatott. A be-ki ciklus periódusa 20 perc körül mozgott, azonban az RNS-polimeráz II promóterkötése nem volt detektálható ekkor. Ösztrogén jelenlétében ezzel szemben az ER, a polimeráz és a koregulátorok is követték ezt a be-ki ciklust, noha egy jelentősen lelassult, körülbelül 40 perces ciklusosságot követve [9]. Ezen eredmények alapján egy sokkal dinamikusabb rendszer kezdett kirajzolódni. Nem szabad azonban meglepedezni arról, hogy a ChIP alkalmazása során a kölcsönható partnereket biokémiai módszerekkel keresztkötjük, így lényegében pillanatképet készítünk a komplexekről. Ezeket a pillanatképeket megfelelően egymás után helyezve érzékelhető ugyan, hogy egy dinamikus változó rendszerről van szó, viszont a perces nagyságrendű időbeli felbontás és az *in vitro* környezet alapvetően korlátozza, hogy a valóságos dinamikai változásokat feltárhassuk.

*A biofizika és a molekuláris biológia határterületén:
in vivo fluoreszcencia mikroszkópia*

Igény jelentkezett tehát olyan molekuláris biofizikai módszerekre, melyekkel nem csupán egy nagyobb sejtpopuláció halmazátlagaként, hanem akár egyedi sejtenként, szubszekundumos felbontással és „valódi” környezetében, azaz *in vivo* körülmények között vizsgálhatók az említett fehérjedinamikai változások. Az igények és a technikai fejlődés szerencsés egybeesése egy sor olyan fluoreszcenciamikroszkópiás eljárás kifejlesztését eredményezte, amelyek megfeleltek ezeknek a kritériumoknak, forradalmasítva a magreceptorok működéséről kialakult elképzeléseket.

A fluoreszcenciamikroszkópiás vizsgálatok alapja, hogy a tanulmányozni kívánt fehérjéhez megfelelő tartományban gerjeszthető és detektálható fluoreszcens fehérjét – zöld fluorescens proteint (GFP) vagy annak különböző színű változatait – csatolnak. Az így keletkező kiméra szerencsés esetben megőrzi a magreceptor eredeti tulajdonságait, azaz ligandumfüggő transzaktivációs, dimerizációs és koregulátorkötési képességét.

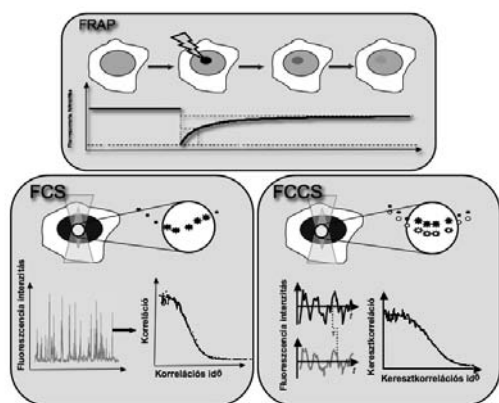
A fúziós fehérjék transzfektálásával élő sejtekben, *in situ* lehet vizsgálni a magreceptorok dinamikájának térbeli és időbeli változásait. A legkézenfekvőbb lehetőség a lokalizáció vizsgálata. Lokalizáció alapján három csoportba oszthatók a magreceptorok. Az első csoportba tartoznak azok, amelyek többnyire elsősorban a magban találhatók. Ilyen az ER, az RXR vagy a RAR. A GR és az AR elsősorban a citoplazmában helyezkedik el, a progeszteronreceptor (PR) pedig hasonló arányban található meg a citoplazmában és a sejtmagban. Ligandumkezelés hatására jellegzetes, az egyes receptorokra jellemző változásokat tapasztalhatunk. Ez jelenti egyrészt a transzlokációt, azaz a ligandummentes állapotban a citoplazmában található receptorok ligandum hatására a magba történő vándorlását, valamint az eloszlás megváltozását is. Az ER diffúz magi eloszlása agonista hatására pontozottá válik, a receptorok intenzívebb és halványabb, de jól kivehető foltokba rendeződnek. A foltképződés mechanizmusa és szerepe még nem minden esetben tisztázott, azonban mivel érdekes módon a foltok nem kolokalizálódnak a transzkripciósan aktív RNS-polimeráz II enzimmel, valószínűnek tűnik, hogy a túlexpresszált magreceptorok raktárai lehetnek. Ugyanakkor ez a fajta

ligandumfüggő eloszlásváltozás PPAR esetében nem figyelhető meg [10].

FRAP. Összefüggésbe lehet-e hozni ezt a változást a transzkripció faktorok szempontjából alapvető DNS-kötéssel? A válasz megadásához olyan módszer szükséges, amivel élő sejtekben, *in situ* követhető a jelölt fehérjék mozgása, dinamikája. A kromatinhoz kötött, immobilizált transzkripció faktorok tanulmányozására alkalmasak például a fotokioltáson alapuló fluoreszcenciamikroszkópiás eljárások. A fotokioltás utáni fluoreszcencia-visszatérés (FRAP) mérése során először rövid ideig tartó, intenzív lézerbesugárzással kitégetjük a fluoreszcens molekulák egy részét a mérési térfogatban, majd detektáljuk a fluoreszcenciajel visszatérését, amit a kitégetett és a térfogatelemen kívülről érkező ép molekulák diffúzióval történő kicserélődése okoz. A mérés információt ad a jelölt molekula mobilitásáról és a molekulák mobilis hányadáról. Ezzel az eljárással sok esetben sikerült kapcsolatot találni a magreceptorok immobilizációja és a kialakuló, pontozott mintázat között (4. ábra, FRAP). A FRAP-eredmények alapján a magreceptorok egyik csoportja – amelybe a PPAR, RAR is tartozik – rendkívüli mobilitással rendelkezik, ami a ligandumkezelés hatására sem változik jelentősen. Ezzel szemben a GR, ER csoportjában ligandumkezelés után a receptorok egy szubpopulációja immobilizálódik, a fennmaradó rész pedig csökkent diffúziót mutat.

Egy átfogó, kromatinkötő fehérjékre irányuló FRAP-vizsgálat szerint a legtöbb fehérje (20 proteinből 18) magas DNS-kötési rátát mutatott, másodperces–perces nagyságrendű tartózkodási idővel. Phair elképzelése szerint ez a gyors dinamika teszi lehetővé, hogy a fehérjekomplexek nagy hatékonysággal válaszoljanak a kötőpartnereken történt legkisebb változásokra is. Így tehát a magfehérjék viselkedésére sokkal inkább a gyors alkalmazkodóképesség, mintsem a hosszú élettartamú, stabil fehérjekomplexek kialakulása jellemző [11].

Itt érdemes visszautalni arra, hogy a CHIP-vizsgálatok azt mutatják meg egy sejtpopulációra vonatkoztatva, hogy adott időpontban mekkora valószínűséggel kapcsolódik egy adott komplex a promóterhez, ellentétben a most említésre kerülő módszerekkel, amelyekkel azt mérhetjük, mennyi időt töltenek az egyes komplexek a promóteren.



4. ábra A dinamikus modell kidolgozásánál alkalmazott fontosabb biofizikai módszerek. A fotokióltás utáni fluoreszcencia-visszatérés (FRAP) mérése során először rövid ideig tartó, intenzív lézerbesugárzással kiegészítjük a fluoreszcens molekulák egy részét a mérési térfogatban, majd detektáljuk a fluoreszcenciájel visszatérését, amit a kiegészített és a térfogatelemen kívülről érkező ép molekulák diffúzióval történő kicserélődése okoz. A fluoreszcenciakorrelációs spektroszkópia (FCS) alkalmazásakor a vizsgált és gerjesztett térfogat konfokális elrendezésű, femtolitres méretű. A fluoreszkáló molekulák – esetünkben a különböző fluorofórokkal jelölt magreceptorok – diffúziójuk során beúsznak a gerjesztési–detektálási térfogatba, és ott fluoreszcens jelet bocsátanak ki, melyet fotodiódával detektálhatunk. Amikor a molekula kiúszik a detektálási térfogattól, a fluoreszcens jel csökken. Megfelelően alacsony molekulakonzentráció mellett csak néhány molekula tartózkodik egy időben a konfokális térfogatban, így a molekulák száma nagy statisztikus ingadozást mutat ($\Delta N \sim N^{1/2}$). Ennek megfelelően az idő függvényében mért fluoreszcenciafüggvény is jelentős relatív ingadozást fog mutatni. Az ingadozást a detektált molekulák diffúziójának sebességén túl fotofizikai folyamatok és kémiai reakciók is befolyásolhatják. A fluoreszcencia ingadozásából kiszámítható az autokorrelációs függvény, amelynek alapján meghatározható a detektálási térfogatban lévő átlagos molekulaszám és a molekulák diffúziós ideje (a detektálási térfogatban töltött átlagos időtartam), ami fordítottan arányos a diffúziós állandóval. Fluoreszcencia-keresztkorrelációs spektroszkópiás (FCCS) méréshez két molekulafajtát különböző színű festékekkel jelölünk, és ezek fluoreszcenciáját két csatornában egyidejűleg detektáljuk. Amennyiben a molekulák stabilan együtt mozognak, a fluoreszcenciaingadozások párhuzamosak lesznek, és az ún. keresztkorrelációs függvény amplitúdója nullától különböző lesz. Az amplitúdóból megbecsülhető a komplex koncentrációja, a diffúziós időből pedig diffúziós állandója.

A magreceptorok transzkripciószabályozásáról kialakuló képet nagyban alakították az ún. tandem array rendszereken végzett kísérletek, ahol a több, mesterségesen egymás mellé rendezett válaszadó elem jól látható lókuszként figyelhető meg, miután kapcsolódott hozzájuk a fluorofórral jelölt fehér-

jék. A legismertebb ilyen típusú kísérletet egérsajt-vonalon végezték, ahol 800–1200 GR kötőhelyet tartalmazó egységet építettek be az egér 4-es kromoszómájába, majd a GFP–GR eloszlását és dinamikáját vizsgálták. A fluoreszcencia-visszatérési idő a 10 másodperces tartományba esett. A receptorok ebből származtatott látszólagos kötési idejét növeli a kötőhelyek nagy koncentrációja, tehát az egy önálló válaszadó elemre jellemző receptortartózkodási idő ennél is kisebb lehet. FRAP-vizsgálattal sikerült kimutatni a magreceptorok, valamint a velük kölcsönható koregulátorok gyors cserélődését ezeken a válaszadóelem-sorozatokon. A transzkripció faktorok és a kromatinkötő fehérjék nagyfokú mobilitása, azaz a válaszkepes promóterek ilyenfajta szondázása arra utal, hogy a transzkripció szabályozás alapját sztochasztikus folyamatok jelentik. Ezen az elképzelésen alapul a McNally-féle „hit-and-run” modell [12].

Úgy tűnik tehát, hogy a FRAP módszer alkalmas ennek az egyre dinamikusabb képet mutató rendszernek a tanulmányozására, azonban a módszer hátránya, hogy nehezen kvantifikálható. Emellett az időbeli felbontása a néhány száz milliszekundumos tartományig terjed.

FCS. A fluoreszcenciakorrelációs spektroszkópia (FCS) jelentette a megoldást erre a nehézségre. Ezzel a módszerrel akár a mikroszekundumos időskálán lejátszódó diffúziós folyamatokat is tanulmányozhatjuk. Magát a módszert már 1974-ben leírták, azonban csak a közelmúltban, az eljárás konfokális mikroszkópiával való összekapcsolásának köszönhetően vált lehetővé, hogy FCS-méréseket *in vivo* körülmények között lehessen folytatni. Ezzel a ligandumhatás és egyéb dinamikai változások olyan pontosságú detektálása vált lehetővé, amelyek a transzkripció szabályozáshoz kapcsolódó elképzeléseket véglegesen új megvilágításba helyezték. Az FCS alkalmazása során egy rendkívül kicsi, szubfemtolitres (köbmikrométernél kisebb) méretű térfogatot gerjesztünk fókuszált lézersugárral. Ez gerjeszti a gerjesztési térfogaton áthaladó, esetünkben a vizsgálandó fehérjéhez kapcsolt fluorofórt, majd az általa kibocsátott sugárzást detektáljuk (4. ábra, FCS). Mivel a detektált jel ingadozása a detektálási térfogatba be- és onnan kidiffundáló molekulák mennyiségétől és azok sebességétől függ, annak vizsgálatából a molekulapopulációk

diffúziós együtthatója meghatározhatóvá válik [13]. Ezzel a módszerrel sikerült kimutatni, hogy ligandumkezelés hatására a PPAR dinamikája jelentősen csökken. Továbbmenve azt is sikerült kimutatni, hogy mind a ligandumkötött, mind pedig a nem ligandumkötött receptor is kisebb diffúziós együtthatóval rendelkezik, mint amekkorára egy, a magban monomerként vagy dimerként szabadon diffundáló molekula esetében számítani lehetne. Erre logikus magyarázat az, hogy *in vivo* körülmények között lényegében nincs szó szabad diffúzióról, mivel a receptorok ligandum hiányában a represszor-komplexhez, ligandumkötés után pedig a még nagyobb méretű aktivátorkomplexhez kötődnek. A komplexek együtthatójából vonatkoztatott molekulatömegek azonban olyan nagynak adódtak, hogy felvetődött ismét annak a gondolata, hogy a receptorok egy populációja tranziensen kötődik a kromatinhoz, és innen adódik a mobilitás jelentős csökkenése. Újra megérkeztünk tehát a „hit-and-run” modellhez, azonban nyilvánvalónak tűnik, hogy a molekulapopuláció dinamikájának változásához a kromatinkötés és a koregulátorkötés egyaránt hozzájárul. A fluoreszcenciarezonancia-energiatranszfer (FRET) módszerével lehetséges élő sejt környezetben fehérje–fehérje együttállások kimutatása, sőt a komplex konformációjának vizsgálata is (mivel a FRET sebességi állandója a donor-akceptor távolság hatodik hatványával fordítottan arányos). Előfordulhat azonban, hogy a fluorofórok az egymással kölcsönható molekulák átellenes oldalán helyezkednek el, vagy relatív orientációjuk a FRET létrejötté szempontjából kedvezőtlen, így a FRET hatásfoka nagyon kicsi vagy nem is mérhető. Különösen hasznos lehet nagyméretű fehérje-komplexek kölcsönhatásainak vizsgálatakor egy olyan módszer, amivel indirekt kötődéseket is ki lehet mutatni [8].

FCCS. A fluoreszcencia-keresztkorrelációs spektroszkópiával (FCCS) két különböző színű festékkel megjelölt molekula fluoreszcenciafluktuációin keresztül a molekulák együttmozgását vizsgálhatjuk (4. ábra, FCCS). Azáltal, hogy ez a módszer is bekerült az *in vivo* körülmények között alkalmazható eljárások fegyvertárába, sejthető, hogy az eddig született modellek pontosításával, átfogalmazásával közelebb kerülhetünk a transzkripciós szabályozás működésének megértéséhez [10].

A molekuláris biológiával párhuzamosan a magreceptor-kutatás is megdöbbentő változásokon ment át az elmúlt bő két évtizedben. Még mindig egy viszonylag fiatal tudományterületről van szó, ahol különösen igaz az, hogy az ugrásszerű előrelépéseket, dogmaváltásokat olyan módszerek elterjedése teszi lehetővé, melyek a határtudományok felől érkeznek, és alkalmazásukkal természetesen korábban nem ismert nézőpontból vizsgálhatjuk a rendszer alapjelenségeit. Ahogy különböző „omikák” megszületéséhez nélkülözhetetlen volt, hogy az informatika eszköztára megfelelő szintre bővüljön, úgy a különböző biológiai rendszerekben felvetődő kérdések újabb és újabb kihívásokat adnak a mikroszkópia, a biofizika és az informatika fejlődésén munkálkodóknak is. Kirajzolódni látszik már a terület következő mérföldköve, amennyiben egyre több *in vivo* fluoreszcencia technológia válik elérhetővé nagy feldolgozóképeségű rendszerekben is.

Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönetet mondanak az OTKA T48745 program támogatásáért.

Irodalomjegyzék

- [1] Griekspoor, A., Zwart, W., Michalides, R. (2007) Visualizing the action of steroid hormone receptors in living cells. *Nucl. Receptor Signal.*, 5: 1–9.
- [2] Jensen, E. V. (1962) On the mechanism of estrogen action. *Perspect Biol. Med.*, 6: 47–59.
- [3] Evans, R. M. (1988) The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science*, 240: 889–895.
- [4] Gronemeyer, H., Miturski, R. (2001) Molecular mechanisms of retinoid action. *Cell. Mol. Biol. Lett.*, 6: 3–52.
- [5] Kersten, S., Wahli, W. (2000) Roles of PPARs in health and disease. *Nature*, 405: 421–424.
- [6] Nagy, L., Schwabe, W. R. (2004) Mechanism of the nuclear receptor molecular switch. *Trends Biochem. Sci.*, 171: 1–8.
- [7] Shang, Y., Hu, X., DiRenzo, J., Lazam, M. A., Brown, M. (2000) Cofactor dynamics and sufficiency in estrogen receptor-regulated transcription. *Cell*, 103: 843–852.
- [8] Hinojos, C. A. D., Mancini, M. A. (2005) Molecular dynamics and nuclear receptor function. *Trends Endocrin. Metab.*, 16: 12–18.
- [9] Metivier, R., Gannon, F. (2006) Transcription in four dimensions: nuclear receptor-directed initiation of gene expression. *EMBO Rep.*, 7: 161–167.
- [10] Gelman, L., Wahli, W., Desvergne, B. (2006) Integrating nuclear receptor mobility in models of gene regulation. *Nuclear Receptor Signaling*, 4: 1–4.
- [11] Phair, R. D. (2004) Global nature of dynamic protein-chromatin interactions *in vivo* three-dimensional genome scanning and dynamic interaction networks of chromatin proteins. *Mol. Cell Biol.*, 24: 6393–6402.
- [12] McNally, J. G., Hager, G. L. (2000) The glucocorticoid receptor: rapid exchange with regulatory sites in living cells. *Science*, 287: 1262–1265.
- [13] Wachsmuth, M., Waldemar, W., Langowski, J. (2000) Anomalous diffusion of fluorescent probes inside living cell nuclei investigated by spatially-resolved fluorescence correlation spectroscopy. *J. Mol. Biol.*, 298: 677–689.

Fitoalexinek mint növényi antimikrobiális vegyületek és a növényi betegség-ellenállóság

Phytoalexins as anti-microbial compounds associated with the disease resistance response of plants

Érsek Tibor

Nyugat-magyarországi Egyetem, Mezőgazdasági és Élelmiszer-tudományi Kar, Növényvédelmi Tanszék, 9200 Mosonmagyaróvár, Vár 2.

Összefoglalás

A fitoalexin-kutatás mintegy hat évtizedes története a másodlagos anyagcsere és a génreguláció területén produkált eredményeivel alapvető és hasznos ismeretekkel gazdagította a növényi biokémiát, valamint a molekuláris biológiát növényi és mikrobiális szinten egyaránt. Növénykórtani szempontból azonban sokkal fontosabb az, hogy új és meglepő összefüggéseket tárt fel a növények és kórokozók kapcsolatában, egynémely esetben molekuláris biológiai bizonyítékát adva Flor „gén a génnel szemben” elméletének. Azonban az eredeti kérdést, nevezetesen azt, hogy a fitoalexinek valóban a növényi rezisztencia aktív részesei vagy annak velejárói csupán, a széles körű vizsgálatok ellenére sem sikerült egyértelműen tisztázni az elmúlt hatvan év alatt.

A növénykórtan egyik alapvető kérdése: miben rejlik a növényi betegség-ellenállóság (rezisztencia)? Hogyan lehetséges az, hogy egy kórokozó faj vagy annak bizonyos rassza az esetek többségében csak egy, esetleg néhány növényfajt vagy – a fajon belül – néhány fajtát képes betegíteni? Megfordítva: mi lehet az oka annak, hogy egyes növények (faj, fajta) ellenállóak bizonyos – potenciálisan növénypatogén – mikroorganizmusokkal szemben, mások viszont fogékonyak?

Az a tapasztalati tény, hogy a növények környezetében lévő számtalan mikroorganizmus közül csupán néhány képes fertőzni és még kevesebb megbetegíteni az illető növényfajt vagy -fajta, arra az általános következtetésre vezetett, hogy a növények valamilyen módon képesek meggátolni egyes kórokozók elterjedését szöveteikben, végső soron

Érsek, T.

University of West Hungary, Faculty of Agricultural and Food Sciences, Department of Plant Protection, H-9200 Mosonmagyaróvár, Vár 2, Hungary

Summary

Results achieved in secondary metabolism and gene regulation during the nearly six century long history of phytoalexin research have enriched plant biochemistry, as well as plant and microbial molecular biology with fundamental and advantageous information. An even more important consideration from the aspect of plant pathology is that they have unrevealed novel and surprising processes within the plant-pathogen interactions, in given cases providing molecular biological evidence for the Flor's gene-for-gene theory. Nonetheless, the original question, whether phytoalexins are indeed active participants or consequence of plant resistance has not been answered, in spite of the wide range exploration, during the last sixty years.

ellenállni a betegségnek. Biotróf (obligát) paraziták tanulmányozása alapján sokáig úgy vélték, hogy a növényben a fertőzési pont körül gyorsan nekrotizálódott (elhalt) szövet lokalizálja a csak élő közegben fejlődni képes kórokozót, vagyis hogy a fertőzés által kiváltott növényi sejthalál az (egyik, talán legfőbb) oka a rezisztenciának mind nem gazdában (általános rezisztencia), mind a gazdanövény egy rezisztens fajtájában (vertikális vagy rasszspecifikus rezisztencia). Amikor kiderült, hogy az elhalt szövetben is fejlődni képes nekrotrof (fakultatív) paraziták éppúgy gyors nekrotizálódást indukálhatnak, és a rezisztens növény elhalt szöveteiben éppúgy gátlódnak, mint a biotrófok, logikusnak látszott az a feltételezés, hogy a nekrotizálódást kísérő anyagcsere-változások – vagyis tágabb értelemben az ún. hiperszenzitív reakció (HR) – során

olyan kémiai anyagok keletkeznek, amelyek antimikrobiális hatásukkal leállítják a szövetbe hatoló kórokozó további fejlődését, esetleg elpusztítják azt, mielőtt betegséget okozna [1,2]. Ez a feltételezés vezetett az ún. fitoalexin-teória kifejtéséhez, és nyitott teret a rezisztens növény gyors fertőzési válasza során végbemenő biokémia folyamatok intenzív kutatásának.

A fitoalexin-elmélet

Müller és Börger [3] ma már klasszikusnak számító munkájuk során – lényegében a szerzett rezisztencia jelensége kapcsán – azt tapasztalták, hogy ha egy burgonyafajta gumószeletét előfertőzik a *Phytophthora infestans* egy olyan rasszával, amelyre az adott fajta (rasszspecifikusan) rezisztens, akkor a HR-rel reagáló gumószelet feltételezhetően antimikrobiális vegyületek, az ún. fitoalexinek termelése révén gátolja meg egy következő, olyan rasszal való fertőzés kiteljesedését, amelyre a burgonyafajta eredetileg fogékony. Később Müller az 1950-es évek végén arra a megállapításra jutott, hogy az általános (a nem gazda) rezisztencia is a fitoalexinek tulajdonítható.

A mülleri fitoalexin-teória alapján kimondható, hogy a fitoalexinek (FA-ek) olyan kis (százas nagyságrendbeli) molekulatömegű vegyületek, amelyek a növény és kórokozó kölcsönhatásának eredményeként termelődnek a rezisztens növényi sejtek nekrobiózisa (HR-ja) során, és amelyek antimikrobiális hatásukkal gátat szabnak egy második fertőzés vagy a közvetlenül támadó gomba elterjedésének [4–12]. Néhány korai munka alapján egyértelművé vált, hogy a FA-ek egészséges növényben nem mutathatók ki, felhalmozódásukat pedig nemcsak gombás, hanem baktériumos és vírusos fertőzések is kiváltják a kórokozóra rezisztens növényben (inkompatibilis kapcsolatban). Nemcsak gombagátló (antifungális), hanem antibakteriális hatásuk is van, vírusokkal szemben azonban az eddigi adatok alap-

ján hatástalanok. Így a FA-ek elvileg meghatározó tényezői lehetnek a növényi betegség-ellenállóságnak, legalábbis gombákkal és baktériumokkal szemben. Az eredeti koncepciónak ellentmondó eredmények okán azonban hamar felmerült a FA-teória revíziójának szükségessége, vagyis annak megállapítása, hogy valóban rezisztenciátényező-e a FA, vagy csupán a rezisztenciát kísérő jelenségek egyike.

Általános jelenség-e a FA-termelés?

Egy izoflavon típusú vegyület, a borsóból származó pizatin volt az első FA, amelyet szerkezetileg azonosítottak, 1960-ban. Ezt követően került sor a bab egyik fitoalexinjének, a szintén izoflavon típusú fazeolinnak, majd rokon vegyületeinek, valamint a burgonya (először a „Rishiri” fajta) gumójában termelődő szeszkviterpén, a risitin kémiai meghatározására. A legkülönbözőbb növénycsaládok – elsősorban a zárwatermők és főleg a kétszikűek – több száz fajából izolált vegyületek száma száz-as nagyságrendű. Rokon növények általában azonos típusú vegyülete(ke)t termelnek. Így például a *Leguminosae*-ben az izoflavon FA-ek, a *Solanaceae*-ben a szeszkviterpének, a *Malvaceae*-ben a naftaldehidek, a *Compositae*-ben a poliacetilének, a *Convolvulaceae*-ben a furanoterpének, az *Orchidaceae*-ben a fenantrének a jellemzőek. Ennek alapján a FA-ek felhasználhatók kemotaxonomiai összefüggések tanulmányozására.

Nemcsak fertőzés, hanem a mikroorganizmusok bizonyos anyagcseretermékei és/vagy szerkezeti anyagai (szénhidrátok, fehérjék, lipidek) mint ún. biotikus elicitorok szintén indukálhatnak FA-t az élő kórokozóra fogékony és rezisztens növényben egyaránt. Hasonlóképpen aspecifikusak egyes mechanikai és kémiai stimulusok, az ún. abiotikus elicitorok. Mindez arra utal, hogy a FA-termelés több-kevésbé általános növényi válasz, de az, hogy az esetek többségében inkább a rezisztens növény fer-



Érsek Tibor, a biológiai tudomány doktora 1978 óta. Szakterülete a növényvédelem és növénykórtan, ezen belül a *Phytophthora*-fajok intra- és interspecifikus változékonysága. 1970 és 2007 között az MTA Növényvédelmi Kutatóintézetének munkatársa, ahol 1995-től 2005-ig óta a Növénykórtani Osztály tudományos osztályvezetője volt. 2007 óta egyetemi tanár a Nyugat-magyarországi Egyetem, Mezőgazdaság- és Élelmiszer-tudományi Karán. Az *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica* és a *Plant Protection Science* (CZ) szerkesztőbizottságának tagja, 2000-ben a Magyar Agrártudományi Egyesület (MAE) Növényvédelmi Társaság Linhart György Emlékérem kitüntetettje. Ez a közlemény a közelmúltban könyvfejezetként megjelent összefoglalójának [12] rövidített változata.

tőzési reakciója, mint a fogékonyé, felveti a specifikusság kérdését: milyen specifikus mechanizmus húzódik meg a háttérben?

Fitoalexinek és az általános rezisztencia

Az általános rezisztencia, vagyis egy növényfajnak más növényfajokra specializálódott kórokozókval szembeni ellenállósága gyakran gyors FA-akkumulációval járó HR-ban fejeződik ki, miután a potenciális kórokozó fertőzi (de nem betegíti meg) a számára idegen növényt. De vajon van-e ok-okozati összefüggés a FA-termelés és a rezisztencia e típusa között? Előfordul ugyanis, hogy egy kórokozó a saját gazdanövényében (tehát fogékonyág esetén) legalább olyan gyors és nagymértékű FA-akkumulációt indukál, mint az illető növényfajra nem patogén mikroorganizmus. Feltételezték, és később bizonyították is, hogy ilyenkor a patogén azért képes betegséget kiváltani, mert kevésbé érzékeny (tolleránsabb) az általa indukált FA-nel szemben, mint az adott fajon HR-t okozó, nem patogén mikroorganizmus. A FA-tolerancia tehát a kórokozónak az a képessége, amellyel az általa indukált FA feltételezett *in planta* gátló hatását leküzdí, megkönnyítve ezáltal saját elterjedését a növényben. Ezzel szemben a rezisztencia a kórokozó fokozott FA-érzékenységének tulajdonított. Az *Ascochyta pisi* és a szintén borsópatogén *Fusarium solani* f. sp. *lisi* (teleomorf: *Nectria haematococca*) toleranciáját az amerikai VanEtten és kutatócsoportja [13] annak tulajdonította, hogy *in vitro* mindkettő képes a pizatint demetilálással számára kevésbé toxikus vegyületté alakítani. Amikor az utóbbi gomba pizatin demetiláz enzimjének génjét (*pda*) sikerült klónozni, kiderült, hogy több ilyen gén is van a genomban. Valamennyit a pizatin indukálja, de eltérő hatékonysággal; azok a legagresszívebb törzsek, amelyekben az indukció gyorsan végbemegy, és az enzimaktivitás is nagy. Szenzációként hatott, hogy a *pda* gén olyan minikromozómán helyezkedik el, amely egyes törzsekben hiányzik és az ilyen törzsek nem is okoznak betegséget. Némiképp csalódást jelentett az a későbbi megállapítás, amely szerint a FA illetén lebontásának képessége nem elengedhetetlen, csupán hasznos fegyvere a kórokozónak, mert az a demetilázaktivitás híján is képes betegséget kiváltani – a pizatinakkumuláció ellenére. Mi több, egy másik borsópatogén gomba, az *Aphanomyces euteiches* szintén gyors és nagy mennyiségű

FA-t indukál gazdanövényében (tehát kompatibilis kapcsolatban), de annak ellenére, hogy *in vitro* igen érzékeny a FA-re, és hatástalanítani sem képes azt, gyorsan terjedve súlyos betegség tünetet okoz a borsón. A tolerancia mechanizmusa a növény–baktérium kapcsolatokban nem ismert, és a fajta–rassz kölcsönhatásokban sem működik. Mindez arra utal – jóllehet a FA-közömbösítésnek egyéb, eddig felátíratlan módjai is lehetnek –, hogy legalábbis a pizatin demetiláz inkább agresszivitás-, mintsem patogénitási faktor. Más szóval: a FA-ek fontosnak tűnő, de semmi esetre sem elsődleges tényezői az általános rezisztenciának.

Fitoalexinek és a rasszspecifikus rezisztencia

A FA-akkumuláció hiánya fogékonyághoz vezet

Számos kísérlet igazolja, hogy a FA-felhalmozódás gátlásával a kórokozófaj egyes rasszaira genetikailag rezisztens növényfajta fogékonyá válóztatható. Már-már klasszikusnak mondható kísérletében Chamberlain és Paxton [14] kimutatta, hogy ha a *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea* (szinonimája: *P. sojae*) megfelelő rasszával fertőzött rezisztens szófafajta szárából egy vékony pamutfonallal elvezetik a keletkezett FA-eket, akkor a növény fogékonyá válik a fertőző kórokozóra. Ha pedig a fonalat egy, az adott rasszra fogékony növény szárába átvezetik, abban FA mutatható ki, és rezisztenssé válik. Szépséghibája ennek a munkának az, hogy nem tudjuk, hogy a FA-eken kívül milyen más, a rezisztencia szempontjából esetleg fontos vegyületek mobilizálódnak.

Általános fehérjeszintézis-gátlókkal (aktinomycin, blaszticidin) vagy specifikusabb inhibitorokkal – mint a flavon típusú FA-ek bioszintézisében is kulcsszerepet játszó fenil-alanin-ammónia liáz (PAL) enzimnek a kompetitív inhibitorai (például az amino-oxiacetát) – egyaránt gátolható a FA-akkumuláció [15] inkompatibilis kölcsönhatásokban, amellyel összhangban vagy amelynek eredményeként a kórokozó gomba, illetve baktérium terjedésének (szaporodásának) a gátoltsága feloldódik, és betegség tünet jön létre az eredetileg rezisztens növényben. Az ilyen vizsgálatoknak – bár félreérthetetlenül bizonyítják a FA-ek *de novo* szintézisét – megvan az a szépséghibájuk, hogy nem elég specifikusak, azaz nem a terminális FA-szinté-

zist befolyásolják. Még a PAL specifikus inhibitorai is a fehérjeszintézisben központi helyet betöltő fenil-alanin-készletet módosítják, vagyis lényegében a fehérjeszintézisbe avatkoznak. Ezért igen fontos, de nem könnyű feladat a terminális FA-szintézisben részt vevő enzimek szerepének vizsgálata. Bár a különböző típusú vegyületek eltérő bioszintézis-útjai elég régóta ismertek [15], sokáig szinte semmit nem tudtunk az e folyamatokban részt vevő enzimek jellegéről. A sikimisav-, az acetát-malonát- és az acetát-mevalonát-reakcióutakon keresztül keletkező gliceolin mint a szója fő FA-je általános szintézisének kezdeti szakaszában működő PAL (a fenilalanint mint az egyetlen lehetséges prekuzort deaminálja) mellett egy olyan enzim, a prenil transzferáz létét is bizonyították [16], amely a terminális szintézisben működik. Elicitorral kezelt szójaszikklevél sejtmentes kivonatában ez az enzim a trihidroxi-pterokarpánt prenilálja egy olyan származékká, amely a gliceolin közvetlen prekuzorának tekinthető.

A gomba gátlása fogékony növényben FA-akkumulációt eredményez

A FA-eknek a vertikális rezisztenciában feltételezett elsődleges szerepét – ezzel a FA-teória érvényességét – magyar kutatók kérdőjelezték meg először. Király et al. [17] kimutatták, hogy az inkompatibilis burgonya-*Phytophthora infestans* kölcsönhatásra (is) jellemző szöveti nekrotizálódás, illetve a szeszkviterpén FA-ek (risitin és rokon vegyületei) akkumulációja kiváltható fogékony gumószeletekben is, ha a növényi szövetbe hatoló kórokozó valamilyen módon gátolt vagy károsított. Az ultrahanggal roncsolt micélium kivonatával való kezelés vagy a genetikailag kompatibilis kölcsönhatást eredményező fertőzéssel egy időben (esetleg néhány órával később) végrehajtott antibiotikus (például klóramfenikolos) kezelés egyaránt rezisztenciaválaszt (hiperszenzitív nekrosis, FA) indukált. Az antibiotikum a kórokozónak a fogékony gumószövetbe való penetrációját nem akadályozta meg, csupán miceliális növekedését (a kolonizációt) gátolta. Ebből arra következtettek, hogy egy genetikailag meghatározott inkompatibilis kapcsolatban is a kórokozónak először – egy ismeretlen, specifikus (később felismerési reakcióként aposztrofált) mechanizmus révén – szintén gátlódnia és/vagy károsodnia kell ahhoz, hogy az ily módon

felszabaduló anyagai (elicitorai) kiválthassák a növényi sejtek HR-jét, a FA-termelést is beleértve. Mindezek alapján kimondták, hogy a hiperszenzitivitás (nekrosis, FA) nem oka, hanem következménye a rezisztenciának. Azt azonban e munka alapján és a későbbi kutatások ismeretében nem lehet kizárni, hogy a FA-ek – mintegy végső döfés-ként – hozzájárulnak a felismerés következtében már meggyengített (károsított) kórokozó teljes gátlásához (elpusztításához).

Specifikus vagy aspecifikus elicitorok?

A kórokozók elicitorainak (vagyis hiperszenzitív típusú nekrosis és vele általában összefüggő FA-felhalmozódás indukálására képes kémiai anyagainak) sokszor ellentmondásokkal terhelt vizsgálata két lehetőséget vetett fel. Az egyik – régebbi – elgondolás szerint a kórokozó különböző rasszainak azonos, nem specifikus elicitorai vannak. Ezek inkompatibilis kapcsolatban a kórokozó kezdeti károsodását kiváltó specifikus felismerési reakció során szabadulhatnak ki, és aspecifikusan indukálják a szöveti nekrotizist, illetve a FA-termelést. E tekintetben nyitott marad a kérdés: milyen specifikus mechanizmus rejtőzködik a hipotetikus felismerési reakció mögött? Az újabb keletű felfogás értelmében a kórokozónak az aspecifikus mellett specifikus elicitorai is vannak. Ez utóbbiak mint domináns avirulenciagének (közvetlen vagy közvetett) termékei csak az adott kórokozóra rezisztens növényfajtában működnek – Flor „gén a génnel szemben” (*gene-for-gene*) modellje [18] alapján – azáltal, hogy kölcsönhatásba lépnek a növény domináns rezisztenciagénjének termékével mint receptorral. Ennek a kölcsönhatásnak az eredménye: specifikus FA-indukció, amelyet később az aspecifikus követ(het). Ennek az elképzelésnek az alapján a felismerésért és a HR- (nekrosis-, illetve FA-) indukcióért ugyanazok a kémiai anyagok felelősek. Egyes vélemények szerint az aspecifikus elicitorok szerepe másodlagos, és egy általános rezisztenciaválaszt indukálnak.

Meglehetősen kevés a specifikus elicitorok létre utaló adat. A szója szikklevelében sebzés (egyébként maga a fertőzés is egyfajta sebzésként fogható fel) hatására aktiválódó endoglükánáz enzim a *Phytophthora sojae* sejtfalából glükomannánt szabadít ki, amely rasszspecifikus elicitoroként funkcionál, vagyis csak azokban a szójafajtákban indukál

FA-termelést, amelyek rezisztensek a kórokozó ama rasszára, amelyből az elicitor származik [19]. Az idézett munkából az a következtetés vonható le – jöhet a szerzők ezt nem tették –, hogy a kórokozó sejtfalának mintegy károsodásként elkönnyvelhető szerkezeti átalakulása (az elicitor kiszabadulása) előfeltétele a FA-felhalmozódásnak.

A DeWitt vezette holland kutatócsoportnak az 1980-as évek elejétől elért eredményei igen meggyőzőnek tűnnek a HR (valójában csak a hiperszenzitív típusú nekrosis, de nem a FA) indukciójának specifikusságával kapcsolatban [20]. Vizsgálataik a paradicsompatogén *Fulvia fulva* (szinonimája: *Cladosporium fulvum*) gombát célozzák, amely a paradicsomlevél sejt közötti járatait kolonizálja. A gombának a *Cf9* rezisztenciagént (amelyet azonosítottak és klónoztak) tartalmazó paradicsomfajtán HR-t okozó ama rasszai, amelyekben a „gén a génnel szemben” elmélet alapján feltételezett *avr9* avirulenciagén jelen van, specifikus elicitorhatást fejtenek ki. Megjegyzendő azonban, hogy ez az elicitorhatás csak a hiperszenzitív nekrosis indukciójával kapcsolatos, FA-termelés a paradicsomban nem mutatható ki!) Az aktivitás csak a *Cf9* gént hordozó fajtákban vált ki HR-t, azaz rasszspecifikus. Nem izolálható az elicitor sem a gomba tenyésztésűrlétéből, sem a fertőzött rezisztens fajtákból. Kinyerhető azonban a fogékony fajták fertőzött leveleinek sejt közötti járataiból abban az esetben, ha a fertőző rassz valamilyen kombinációban tartalmaz funkcionális *avr9* gént. Ez azt jelenti, hogy egyfelől a gombának föl kell szaporodnia (a növényben!) ahhoz, hogy kimutatható mennyiségű elicitor termeljen, másfelől pedig elicitorhatásának kifejtéséhez szükséges a megfelelő rezisztenciagén specifikus produktuma (receptora).

A fertőzött és az adott rasszra fogékony paradicsomlevelek intercelluláris folyadékának kémiai elemzéséből kiderült, hogy az elicitor egy 28 aminosavból álló, ciszteinben gazdag peptid, amely az *avr9* gén közvetlen terméke, s jelen van mindazokban a rasszokban, amelyek tartalmaznak funkcionális *avr9* gént. Az elicitorgén legalább egy kópiáját felvett (eredetileg virulens) transzformánsok avirulenssé váltak (HR-t okoztak) a *Cf9* paradicsomgenotípusban. Viszont ha folyamatosságában (diszrupcióval) megszakították az *avr9* gént, akkor az ilyen törzs nem termelt elicitor, és virulenssé változott a *Cf9* fajtán. A kórokozó más rasszaiban is ta-

láltak ciszteinben gazdag, specifikus elicitorokat és az azokat kódoló avirulenciagéneket mint például az *avr4* gént, amely a *Cf4* rezisztenciagént hordozó paradicsomfajták HR-jának indukálásáért felelős. Úgy tűnik, az egyes avirulenciagének szekvenciája mindössze egyetlen, bár különböző helyen fellépő, de mindig a ciszteinkodont érintő pontmutációban különbözik egymástól, amikor is a TGT ciszteinkodonra módosul. Mivel a cisztein meghatározó szerepet játszik a fehérjék másodlagos és harmadlagos szerkezetének kialakításában, már ez a kis módosulás elég ahhoz, hogy a gazdanövény elicitorspecifikus receptorai ne ismerjék fel az adott elicitor, vagyis hogy ne alakuljon ki HR. Ezek az eredmények egyértelműen igazolják – legalábbis ebben a növény–parazita kapcsolatban –, hogy (a) az avirulenciagén és a rezisztenciagén termékeinek kölcsönhatása határozza meg a rasszspecifikus rezisztencia kialakulását a „gén a génnel szemben” modellnek megfelelően; (b) az elicitor az avirulenciagén közvetlen translációs terméke, amely fogékony növényben is termelődik (tehát anélkül, hogy a gomba előzőleg károsodna), de abban specifikus receptor hiányában nem képes HR-t indukálni.

Specifikus elicitorokat és/vagy azok avirulenciagénjeit (*avr*) sikerült kimutatni néhány más gombában és egyes baktériumokban, jöhet az elicitor nem minden esetben bizonyult közvetlen génterméknek, illetve volt olyan, hogy az *avr* gént izolálták, de a közvetlen vagy közvetett génterméket (specifikus elicitor) nem. Az első bakteriális *avr* gént a szóját betegítő *Pseudomonas syringae* pv. *glycineaból* izolálták [21]. Találtak egy olyan klónt, amely más rasszok virulenciáját az adott szójafajtán avirulenssé változtatta. Az *avr* gén közvetlen (fehérje-) terméke azonban a várttal ellentétben nem működött elicitorként. A *P. syringae* paradicsompatogén változatából (pv. *tomato*) klónozott *avrD* gén közvetlen termékének szintén nincs elicitoraktivitása. Mindkét esetben közvetett elicitorhatást feltételeznek.

A sokszor csak egynéhány sejtre terjedő, ezért szabad szemmel nem látható HR során a szokásos kivonási eljárásokkal nem mutatható ki FA. Sajátos mikroszkópos és festési módszerek alkalmazásával viszont bizonyítható, hogy – például a *Peronospora manshuricával* fertőzött rezisztens szójalevélben – közvetlenül a gomba penetrációs helye körül elhaló

néhány növényi sejtben a szója izoflavon típusú FA-jeire (gliceolin és rokon vegyületei) jellemző autofluoreszcenciájú anyag akkumulálódik mintegy 10 órán belül. Fogékony növényben ezzel szemben csak több nap múlva észlelhető igen kis mértékű felhalmozódás [22].

Molekuláris módszerek a fitoalexinek szerepének vizsgálatában

A FA-eknek a rezisztencia jelenségével való kapcsolata (ok vagy korrelatív esemény) igazolására ígéretesnek tűnő lehetőség olyan transzgenikus vagy bioszintézis-mutáns növények előállítása, amelyek elvesztették FA-termelő képességüket. Ma már több, a terminális FA-szintézisben részt vevő (tehát specifikus) enzim ismert, mint például a *Solanaceae* családra jellemző szeszkviterpén cikláz, vagy egy metil transzferáz, mely a borsó izoflavon FA-je, a pizatin szintézisének végső lépését végzi. Ezeknek az enzimeknek a specifikus gátlásával, illetve – mivel a kódoló géneket már klónozták is – génjeik diszruptiót követő átültetésével közelebb juthatunk a megoldáshoz.

Az egyetlen növény az *Arabidopsis thaliana*, amelynek sikerült eddig FA-képzésre képtelen (FA-deficiens) mutánsait előállítani [23]. Ez a rövid tenyészidejű és viszonylag kis genomú, ezért a genomkutatásokban kedvelt modellnövény a kamalexin (kéntartalmú indolvegyület) nevű FA-t termeli. Kamalexin-deficiens mutánsaival végzett vizsgálatok némi csalódást keltenek, mert egyes mutánsokban – bár nem termelődött FA – az indukáló (inkompatibilis) kórokozó nem növekedett jobban, mint az eredeti, FA-képzésre képes növényekben. Ezek a vizsgálatok egyelőre sugallják, hogy a FA-ek semmiképp nem kizárólagos meghatározói az ún. öröklött rezisztenciának.

Az utóbbi évek genomkutatásainak köszönhetően néhány növényből (például az *Arabidopsis*-ből, rizsből stb.) sikerült rezisztenciagéneket klónozni és kimutatni, hogy ezek más növénybe átvive is működőképesek. Egyelőre az alap kutatás szintjén, de szintén ígéretesnek tűnnek azok a próbálkozások, amelyek a kórokozók elicitortermelésért felelős avirulenciagéneket építik be azoknak a növényeknek a genomjába, amelyek hordozzák az elicitornak megfelelő rezisztenciagént [24,25]. A cél az, hogy védekezési gének promótereivel úgy szabá-

lyozzák az avirulenciagént, hogy az csak fertőzéskor (HR) fejeződjék ki.

Irodalomjegyzék

- [1] Dixon, R. A., Lamb, C. J. (1990) Molecular communication in interactions between plants and microbial pathogens. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **41**: 339–367.
- [2] Baker, B., Zambryski, P., Staskawicz, B., Dinesh-Kumar, S. P. (1997) Signaling in plant–microbe interactions. *Science*, **276**: 726–733.
- [3] Müller, K. O., Börger, H. (1941) Experimentelle Untersuchungen über die *Phytophthora*-Resistenz der Kartoffel. *Arb. Biol. Anst. Reichsanst (Berlin–Dahlem)*, **23**: 189–231.
- [4] Cruickshank, I. A. M. (1963) Phytoalexins. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **1**: 351–374.
- [5] Bailey, J. A., Mansfield, J. W. (Eds.) (1982) Phytoalexins. Blackie and Sons, Glasgow.
- [6] Deverall, B. J. (1976) Current perspectives in research on phytoalexins. In: *Biochemical Aspects of Plant Parasite Relationships* (Friend, J., Threlfall, D. R., Eds.) *Phytochem. Soc. Symp. Series*, No. 13 Acad. Press, London–New York–San Francisco, pp. 207–223.
- [7] Gross, D. (1977) Phytoalexine und verwandte Pflanzenstoffe. In: *Progress in Chemistry of Organic Natural Products 34* (Herz, W., Grisebach, H., Kirby, G. W., Eds.) Springer-Verlag, Wien–New York, pp. 187–247.
- [8] Darwill, A. G., Albersheim, P. (1984) Phytoalexins and their elicitors – A defense against microbial infection in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, **35**: 243–275.
- [9] Kuæ, J. (1985) Phytoalexins. *Arch. Biochem. Biophys.*, **236**: 455–472.
- [10] Érsek, T., Király Z. (1986) Phytoalexins: Warding-off compounds in plants? *Physiol. Plantarum*, **68**: 343–346.
- [11] Hammerschmidt, R. (1999) Phytoalexins: What have we learned after 60 years? *Annu. Rev. Phytopathol.*, **37**: 285–306.
- [12] Érsek T. (2007) Fitoalexinek: antimikrobiális vegyületek a növény fertőzés indukálta rezisztenciaválaszában. In: *Molekuláris növénykórtan* (Gáborjányi, R., Király, Z., szerk.) Agroiinform Kiadó, Budapest, pp. 292–304.
- [13] VanEtten, H. D., Matthews, D. E., Matthews, P. S. (1989) Phytoalexin detoxification: importance for pathogenicity and practical implications. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **27**: 143–164.
- [14] Chamberlain, D. W., Paxton, J. D. (1968) Protection of soybean plants by phytoalexins. *Phytopathol.*, **58**: 1349–1350.
- [15] Ebel, J. (1986) Phytoalexin synthesis: the biochemical analysis of the induction process. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **24**: 235–264.
- [16] Zähringer, U., Ebel, J., Mulheim, L. J., Lyne, R. L., Griesebach, H. (1979) Induction of phytoalexin synthesis in soybean. Dimethylallylpyrophosphate: trihydroxypterocarpan dimethylallyl transferase from elicitor-induced cotyledons. *FEBS Lett.*, **101**: 90–92.
- [17] Király, Z., Barna, B., Érsek T. (1972) Hypersensitivity as a consequence, not the cause, of plant resistance to infection. *Nature*, **239**: 456–458.
- [18] Flor, H. H. (1942) Inheritance of pathogenicity in *Melampsora lini*. *Phytopathol.*, **32**: 653–669.
- [19] Keen, N. T., Yoshikawa, M., Wang, M. C. (1983) Phytoalexin elicitor activity of carbohydrates from *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea*. *Physiol. Plant Pathol.*, **21**: 65–70.
- [20] DeWitt, P. J. G. M. (1995) Fungal avirulence genes and plant resistance genes: unraveling the molecular basis of gene-for-gene interactions. *Adv. Bot. Res.*, **21**: 147–185.
- [21] Staskawicz, B. J., Dahlbeck, D., Keen, N. T. (1984) Cloned avirulence gene of *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* determines race-specific incompatibility on *Glycine max* (L.) Merr. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **81**: 6024–6028.
- [22] Érsek, T., Holliday, M., Keen, N. T. (1982) Association of hypersensitive host cell death and autofluorescence with a gene for resistance to *Peronospora manshurica* in soybean. *Phytopathol.*, **72**: 628–631.
- [23] Glazebrook, J., Ausubel, F. M. (1994) Isolation of phytoalexin-deficient mutants of *Arabidopsis thaliana* and characterization of their interactions with bacterial pathogens. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **91**: 8955–8959.
- [24] Dixon, R. A., Lamb, C. J., Masoud, S., Sewalt, W. J. H., Paiva, N. L. (1996) Metabolic engineering: prospects for crop improvement through the genetic manipulation of phenylpropanoid biosynthesis and defense responses – a review. *Gene*, **179**: 61–71.
- [25] Mourgues, F., Brisset, M.-N., Chevreau, E. (1998) Strategies to improve plant resistance to bacterial diseases through genetic engineering. *Trends Biotech.*, **16**: 203–210.

A víz mint biomolekula

Tisztelt Szerkesztő úr!

Régebben egyik fizikus barátom azt bizonygatta, hogy mivel az atomok tömegének legnagyobb része az atommagban koncentrálódik, a magkutatóknál semmi nem lehet fontosabb. Nemrégén, a gondolatmenetet továbbfűzve, egyik vegyész barátom úgy érvelt, hogy a víz a legfontosabb biomolekula, hiszen az élő sejtek tömegének jelentős részét víz teszi ki. Jót mulattam a humorosnak szánt megjegyzésen, mindaddig, amíg kezembe nem vettem a Magyar Biokémiai Egyesület hivatalos lapja, a *Biokémia* 2007. júliusi számát. A kiadvány három cikkben mutatta be a víz kevésbé kutatott és a tudományos közvélemény által kevésbé elfogadott alkalmazási lehetőségeit.

A víz különleges sajátosságai és jelentősége mindannyiunk számára közismert. Szervetlenkémia-tanárunk lelkesen ecsetelte a vízzel kapcsolatos anomáliákat, amelyek mindegyike megmagyarázható a molekulák közötti hidrogénkötések kialakulásával. Szerveskémia-tanárunktól azt is megtudhatuk, hogy a szervetlen vegyületekkel szemben, a szerves molekulák világában gyakori a hidrogénhíd-kapcsolat, ami számos biológiailag jelentős anyag (cukrok, fehérjék, nukleinsavak) szerkezetében játszik fontos szerepet. Így az is könnyen érthetővé vált, hogy a víz az élő szervezetekben nem egyszerűen csak oldószer, hanem fontos kölcsönható partner, a makromolekulák integráns eleme, úgy, ahogyan azt Bókkon István bevezető cikkében [1] röviden összegezte. A téma jelentőségét illusztrálja, hogy a „water” szóra végzett kereséssel 394 699 orvosi vagy biológiai témájú cikket és kivonatot találtam az NCBI adatbázisában. Nagy az érdeklődés a természetes vizek, ásványvizek és gyógyvizek iránt is. A cikk azonban nem ebben az irányban halad tovább, inkább a „rizikós” kérdéseket tárgyalja. A mágneses vízlágyítás, helyesebben mágneses vízkezelés hazánkban a 1970-es évek második felében vált közismertté, amikor Beck Mihály Tudomány-áltudomány című könyvében [2] negatív példaként ismertette. Annak ellenére, hogy már több mint fél évszázada használják (az első vízkezelő berendezést 1945-ben, Belgiumban szabadalmaztatták), a mai napig nem világos működési elve. A tisztántátást zavarja, hogy a szakmai érdeklődés mellett/helyett jelentős gazdasági érdekek is közrejá-

szanak. Közismert, hogy a mágneses tér hat a paramágneses anyagokra és a töltéssel rendelkező részecskékre, ily módon befolyásolja a kémiai reakciók lefolyását, de az nem igaz, hogy meggátolja a vízkő (CaCO_3 és MgCO_3) kiválását a kemény vízből. Éppen ellenkezőleg, kontrollált körülmények között az állandó mágneses tér elősegíti a kristálygócok kialakulását és CaCO_3 kristályok képződését [3]. A kezelés azért lehet előnyös, mert több kisebb kristály jön létre, illetve az edény és csőhálózat falához erősen tapadó kalcit kristályforma mellett kialakul a tűszerű, kevésbé tapadó aragonit [4], aminek az eltávolítása kevesebb nehézséggel jár. Eddig egyetlen Bókkon fejtegetésével. Azonban a mágneses vízkezeléssel kapcsolatban súlyos félreértésnek tartom azt a széles körben elterjedt hiedelmet, miszerint a hatás a mágneses tér alkalmazása után sokáig, akár napokig is fennmaradhat. A hosszú távú hatás fizikai alapjainak hiányára már Beck Mihály is rámutatott, ezt a jelenséget az újabban publikált mérvadó tudományos cikkek meg sem említik. Éppen ezért az előzetesen mágnesezett víz biológiai hatásairól szóló közléseket kétkedéssel kell fogadnunk. A modern diagnosztikai eljárások széles körű alkalmazása lehetővé tette, hogy betegek ezrei essenek át a mágneses térben végzett, a mágneses rezonancia elvén történő képalkotásos (MRI) vizsgálaton. Ennek ellenére még senki nem számolt be a közlemények alapján várható kedvező hatásokról.

Az oxigénnel dúsított víz ivása a szervezet oxigénellátásának kis hatásfokú módszere. A víz csak kis mértékben oldja az oxigént: 0 °C-on 4,89 ml; 25 °C-on 3,16 ml; 50 °C-on 2,45 ml oldható fel 100 g vízben. Ezeket az adatokat azért másoltam ki a *Handbook of Chemistry and Physics* kézikönyvből [5], hogy cáfoljam azt a hibás megállapítást, miszerint a hűtés csökkenti az oldottoxigén-tartalmat. Egyben azt is láthatjuk, hogy 1 dl szoba-hőmérsékletű, légköri nyomáson oxigénnel telített víz elfogyasztásakor kb. 3 ml tiszta oxigén kerül a gyomorba. (Ezt a mennyiséget kb. 15 ml levegő beszívásával juttathatjuk a tüdőbe.) A cikkben említett 200 mg/ml koncentrációjú oldatot csak túlnyomással lehet elő-



állítani, a kb. 6 atm nyomáson telített víz 1 dl mennyisége már 18 ml oxigént juttat a szervezetbe. Hogy a kezelésnek nincs káros mellékhatása, könnyen elhíhet, de ez még nem bizonyítja azt, hogy bármilyen előnnyel járna. Számomra úgy tűnik, hogy a szövetek oxigénellátásának a vérkeringést megkerülő módon történő biztosítása nem lehet versenyképes az orvosi gyakorlatban alkalmazott oxigénbelélegeztetéssel szemben.

Lehetséges, hogy a szerző a fenti két példával kívánta felhívni a figyelmet arra, hogy a vízzel kapcsolatban milyen sok megalapozatlan információ forog közszájon, és így készítette elő azt a témát, amit a következő két cikk részletesebben kibont. A közönséges víz (H₂O) nehézvíztartalmáról (DHO) van szó. Hevessy munkássága nyomán úgy tartjuk, hogy az azonos elektronszámú, de eltérő neutronszámú izotópok kémiai szempontból azonos módon viselkednek. A hidrogén izotópjai azonban kivételt képeznek, ami érthető, ha meggondoljuk, hogy a prócium (¹H) és deutérium (²D) atomtömege között 100% eltérés van. Ezzel szemben a ¹²C és a ¹³C közötti különbség mindössze 8%. Az izotópok tömegkülönbségből adódó reakcióképesség különbségét a kinetikai izotópeffektus (KIE) segítségével jellemezzük. Ez azt mutatja meg, hogy a könnyebb izotópot tartalmazó vegyület hányszor gyorsabban reagál, mint a nehezebb izotóptartalmú párja. A H/D pár esetében ez a szám 6–10, míg a ¹²C/¹³C párra vonatkozó érték mindössze 1,04. Közbevetőleg megjegyzem, hogy sehogyan sem illik a képbe Bókkon utolsó hivatkozása [6], miszerint a kreatin kináz reakcióban a ²⁵Mg²⁺-ion sokkal hatékonyabbnak bizonyult, mint a ²⁴Mg²⁺- vagy a ²⁶Mg²⁺-izotópok. A hatékonyabb izotóp tömege csak 4%-ban különbözik a kevésbé hatékonyaktól, azaz a KIE ebben az esetben elhanyagolható. Attól tartok, a szerző nem figyelte fel arra, hogy nem a legkisebb iontömegű izotóp reagált a leggyorsabban, hanem a páratlan nukleonszámú, ami a páros nukleonszámúakkal szemben magmágneses momentummal rendelkezik. Tehát az idézett műben nem egyszerűen az izotóparányt, hanem a magok mágneses sajátosságait használták fel a reakciómechanizmus tisztázására. A KIE-ra visszatérve, jelentős hatás elsősorban akkor észlelhető, ha az izotóp atom közvetlenül részt vesz a kémiai reakció sebességmeghatározó lépésében (elsődleges KIE). Kiseb hatás várható, ha az izotóp a molekula más részén talál-

ható (másodlagos KIE). A helyzetet tovább komplikálja, hogy a kisméretű H-atom esetében számolnunk kell a kvantummechanikai alagúthatással is, ami miatt bizonyos folyamatokban a hidrogén a deutériumnál 25-ször gyorsabban reagál. Tehát a H és D közötti lényegi különbség a D lomha reakcióiból adódik. Ismeretes az is, hogy a disszociációra képes H kicserélhető deutériumra. A kicserélődés sebessége attól függ, hogy a vegyületben lévő H milyen könnyen lép kölcsönhatásba a nehézvízzel. A kicserélődési reakciót számos fehérje esetében megvizsgálták az aminosav-oldalláncok hozzáférhetőségének meghatározása érdekében, de legjobb tudomásom szerint egyetlen fehérjét sem találtak, amely különösen erősen kötötte volna a deutériumot. Ezért kétségbe vonom Somlyai Gábor deutériumérzékelő enzimekre vonatkozó hipotézisét [7]. Azt sem tartom valószínűnek, hogy a deutérium a fehérjék szerkezetében jelentős változásokat hoz létre, vagy a másodlagos KIE révén fejti ki hatását. Sokkal kézenfekvőbb, hogy a lomha deutérium lelassít minden olyan reakciót, amelynek sebességmeghatározó lépésében a H-atom vagy H⁺-ion helyébe lép. Ilyen reakció pedig bőven található az élő sejtekben, többek között a Somlyai által említett ATP-áz [8] vagy a Kiss és mtsai [9] által kiemelt pumpamechanizmusok. Az életfontosságú reakciók és jelátviteli utak lelassulása alapján, minden további feltételezés nélkül, egyszerűen értelmezhető a nehézvíz növekedést gátló, toxikus hatása.

A *Biokémia* cikksorozatában azonban nem a nehézvíz-hozzáadás, hanem éppen a természetes víz nehézvíztartalmának csökkentése és annak hatása a fő kérdés. Bókkon az ötlet felvetését egy 1975-ben megjelent *Nature*-cikkre vezeti vissza [10]. A közlemény *on-line* nem érhető el, de érdemes a könyvtárban utánajárni. Két jópofa denveri geológus, J. D. Gleason és I. Friedman, egy levélben számol be műkedvelő botanikai kísérletük eredményeiről. Összesen 6 db, nagyméretű befőttes üvegben vizuálisan követték 25-25 zabmag csírázását és növekedését. Három különböző kísérleti protokollt alkalmaztak: hidegben (1,7–3,3 °C), melegben (24–26 °C), valamint váltakozva hidegben és melegben (1,7–26 °C) nevelték a növényeket desztillált tengervíz, illetve alacsony ²D- és ¹⁸O-tartalmú, sarki jégből olvasztással nyert víz hozzáadása után. Akárhogyan is számolom, mindegyik kísérletet csak egyszer állt módjukban elvégezni, de szerencsére mindhárom

protokoll azonos eredményre vezetett, a zab jobban nőtt a csökkentett deutériumtartalmú vízben. Az eredmény megfelelt a várakozásnak, ha a nehésvíz káros, kivonása nyilván kedvező kell hogy legyen. Gyenge lábon álló mérési adataikat egyetlen hivatkozással támasztották alá: 1969-ben K. Kashutin a *Nature* szovjet változatában [11] arról számolt be, hogy a hó olvasztásával nyert alacsony D-tartalmú vízzel történő táplálás után jobban növekedett az uborka, a retek és a tavaszi búza, a tyúkok többet tojtak, és a szopós malacok is jobban gyarapodtak. A szerzők végül megjegyzik, hogy a kísérletek megismétlésére elegendő hó áll rendelkezésre a Sziklás Hegység ormain. A szinte szó szerint idézett levél stílusát és tartalmát elemezve úgy gondolom, hogy egyszerű beugratásról (*practical joke*) van szó. Ezek alapján hajlok arra, hogy a csökkentett deutériumtartalmú víz (Dd-víz) biológiai hatásainak vizsgálata Somlyai felvetése alapján 1993-ban indult meg [8]. Elismerem, hogy az ötlet kidolgozása jelentős bátorságot és kitartást igényelt, mert a természet szűkre szabta a kutató mozgásterét. Az emberi szervezet deutériumkoncentrációját a *Biokémia* két cikke is összeveti a vér ionösszetételével [7,9]. Ezt az összehasonlítást félrevezetőnek tartom, ugyanis a koncentrációba minden esetben beleszámolják az adott elem összes természetes izotópját, csak éppen a DHO 12–14 mM koncentrációjának megadásakor feledkeznek meg a több mint háromezerszeres H₂O-feleslegről. Egyszerűen meg lehet becsülni azt, hogy ha az összes lomha deutériumot kivonjuk a vízből, és ha a maximális KIE-hatással számolunk, kb. 0,1%-kal lehet nagyobb a H-t érintő kémiai reakciók sebessége Dd-vízben. Az is igaz azonban, hogy a csökkent D/H izotóparány a Dd-víz pótlásával hosszú ideig fenntartható, és a kis kezdeti különbségek az összekapcsolódó enzimek révén felerősödhetnek. Az élő rendszerek bonyolultságából adódóan nem lehet megbízható jóslást tenni a végső hatásról, a kérdést csak kísérletesen lehet eldönteni. És íme, a Dd-víz hatására számos vizsgálati rendszerben a sejtosztódás vagy sejtnövekedés csökkenését figyelték meg! Úgy tűnik, akár növeljük, akár csökkentjük a sejtek D-tartalmát, az a megszokott reguláció felbomlásához és a növekedés gátlásához vezet. Kiss és mtsai azt javasolják [9], hogy ez a sejten belüli pH-eltolódással magyarázható, és Somlyai hozzáteszi [7], hogy mindez összefügg a génextpresszió megváltozásával. Vonzó

modell, amit azonban még bizonyítani kell. Valóban kimutatható-e az intracelluláris pH eltolódása? Mely gének expressziója változik? Érdemes lenne megvizsgálni egy *microarray* kísérletben a pH-regulált gének expressziószintjének változását. Egy kísérletesen alátámasztott mechanizmus sokat segítené a kezelés elfogadtatásában.

Annak ellenére, hogy az izotóparány tetszőleges ideig fenntartható, a Dd-vizes kezelés biológiai hatása átmenetinek bizonyult. Az élő szervezetek homeosztázisra törekszenek, néhány óra vagy néhány nap elteltével alkalmazkodnak a megváltozott körülményekhez, és kompenzálják a D-koncentráció csekély változását. A kompenzációs mechanizmusokról még semmit nem tudunk, ezek meghatározása további vizsgálatokat igényel, különösen azért, mert Kiss és mtsai azt feltételezik [9], hogy a rákos sejtek rosszabb adaptációs képességük miatt pusztulnak el a Dd-vízben. A rákos sejtek stresszérzékenysége elfogadott tény, és ha bizonyítást nyer az, hogy a Dd-víz enyhe stresszhatást hoz létre, összeáll a kép. Sajnos az eszmefuttatásban feltűnően sok a ha, számos egymásra épülő kísérlet-sorozatot kellene még elvégezni ahhoz, hogy a jelenségeket magyarázó, megbízható modell megszülessen.

A kritikus kísérletek hiánya mellett a *Biokémia* tematikus számában közölt eredmények értelmezését zavarja még a címlapon szereplő ábra hibás jelölése és néhány további technikai probléma. Sajátos módon a két kísérletes cikk adatai nincsenek egymással összhangban a természetesnél magasabb D-tartalmú víz hatását illetően. Ezen kívül, a szegedi munkacsoport [9] egyetlen esetben sem adja meg a mérések számát és hibáját. Az embernek az az érzése, hogy sokszor a mérési hibahatáron belüli eltéréseknek tulajdonítanak jelentőséget. A problémák tisztázása csak még több kutatómunka elvégzése után lehetséges.

Véleményem szerint a vízzel foglalkozó cikksorozat több problémát vetett fel, mint amit megoldott. Úgy tűnik, hogy a Beck Mihály által korábban leírt hibák: a megalapozatlan analógiák, a pontatlan hivatkozások, a kísérleti hibák elhanyagolása, a bonyolult és még bizonyítatlan elméletek kritika nélküli átvétele és különösen a gazdasági érdekek tudományt torzító hatásai újraéledtek, vagy talán sosem szűntek meg a tudományos irodalomban. Re-

mélem, levelemből kiderült, hogy céloom nem a szerzők kritizálása, hanem a téma kicsit más szempontból való megközelítése volt. Az, hogy ugyanazon cikkeket olvasva, azonos ábrákat nézve én néhol más következtetésre jutottam, egyéni szemléletmódomnak köszönhető. Hipotéziseim semmivel sem jobb az övékéinél; azt hogy kinek van igaza, csak kísérletekkel lehet eldönteni. Bízom benne, hogy a szerzők írásomban találnak néhány olyan gondolatot, amit hasznosítani tudnak, és hogy további munkájukkal találmányuk jelentőségét a tudomány szabályai szerint mindenki számára bizonyítani tudják.

Irodalomjegyzék

- [1] Bókkon, I. (2007) *Biokémia*, 31: 22–27.
- [2] Beck, M. (1978) *Tudomány-áltudomány*. (2. átdolgozott kiadás, Akadémiai Kiadó, Budapest)
- [3] Fathi, A., Mohamed, T., Claude, G., Maurin, G., Mohamed, B. A. (2006) Effect of a magnetic water treatment on homogeneous and heterogeneous precipitation of calcium carbonate. *Water Res.*, 40: 1941–1950.
- [4] Knez, S., Pohar, C. (2005) *J. Colloid Interface Sci.*, 281: 377–388.
- [5] Weast, R. C. (Ed.) (1979) *Handbook of Chemistry and Physics*. 60th Edition. (CRC Press, Boca Raton, FL, USA)
- [6] Buchachenko, A. L., Kouznetsov, D. A., Orlova, M. A., Markarian, A. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 102: 10793–10796.
- [7] Somlyai, G. (2007) *Biokémia*, 31: 28–32.
- [8] Somlyai, G., Jancsó, G., Jákli, Gy., Vass, K., Barna, B., Lakics, V., Gaál, T. (1993) *FEBS Lett.*, 317: 1–4.
- [9] Kiss, A. S., Galbács, Z. M., Kotogány, E. (2007) *Biokémia*, 31: 33–36.
- [10] Gleason, J. D., Friedman, I. (1975) *Nature*, 256: 305.
- [11] Kashutin, K. (1969) *Priroda USSR*, 58: 107.

Dombrádi Viktor

Mennyei kapcsolatok

Tisztelt Szerkesztő úr!

A *Biokémia* 2007. júniusi számában olvastam egy nekrológot az igen tiszteletreméltó Pais Istvánról. Szilágyi Mihály azonban nem hangsúlyozta, csak éreztette az elhunyt földöntúli kapcsolatait. Az 1923-ban született Pais Istvánnak a felkészültségét az 1919-ben meghalt Schulek Frigyes felismerte! Pláne egy építész!

Nem tudhatom, hogy mit gondol odafönt a kiváló analitikus, Schulek Elemér. Most van alkalmuk egymás között tisztázni. Több odafigyelést és jobb lektorálást kívánok! (Persze ez nem jellemző a kiváló lapra, de most megtörtént.)

Szarka Ernő



SZKARABEUSZ

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

SERVA
Electrophoresis

Finomvegyszerek
Elektroforézis
Élettudományi vizsgálatok
Kollagének
Ioncserés közegek
Enzimek/koenzimek/inhibitorok

CULTIMED Mikrobiológiai termékek
CODEX: Gyógyszerkönyvi minőségű alapanyagok

Panreac
Panreac Química S.A.

Finomvegyszerek, reagensek
Műszeres analízishez szükséges termékek
Vízmentes, szárított oldószerek
Deuterizált anyagok NMR analízishez
Nyomelem-analízishez reagensek
Nagy tisztaságú oldószerek
Nagy tisztaságú savak, reagensek

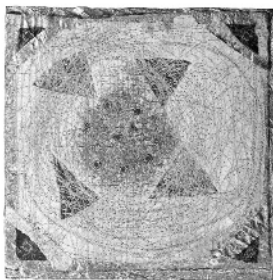
ADITIO: Élelmiszer-ipari minőségű alapanyagok
(antioxidánsok, stabilizátorok, pH-szabályozók, ásványi sók stb.)

Lencsés Ida a pécsi Művészeti Szakközépiskolában, majd a Magyar Iparművészeti Főiskolán tanult, ahol 1983-ban végzett textiltervező iparművész szakon. Fontosabb kitüntetései, díjai: Kozma Lajos-ösztöndíj (1987–1990), Rózsa Anna-díj (1996), Ferenczy Noémi-díj (2003). Számos művészeti társulás, alapítvány munkájában részt vesz, így a Gobelinművészek 14 Csoportja, a Fiatal Iparművészek Stúdiója és a Magyar Képzőművészek és Iparművészek Szövetsége tagja, illetve 1991-től a Kulturális Alapítvány a Textilművészekért egyik létrehozója, valamint a Belvárosi Művészek Társaságának alapító és elnökségi tagja. Munkái megtalálhatók egyebek között az Iparművészeti Múzeum (Budapest), a Rippl-Rónai József Múzeum (Kaposvár) és a Del Bello Gyűjtemény (Toronto) anyagában.

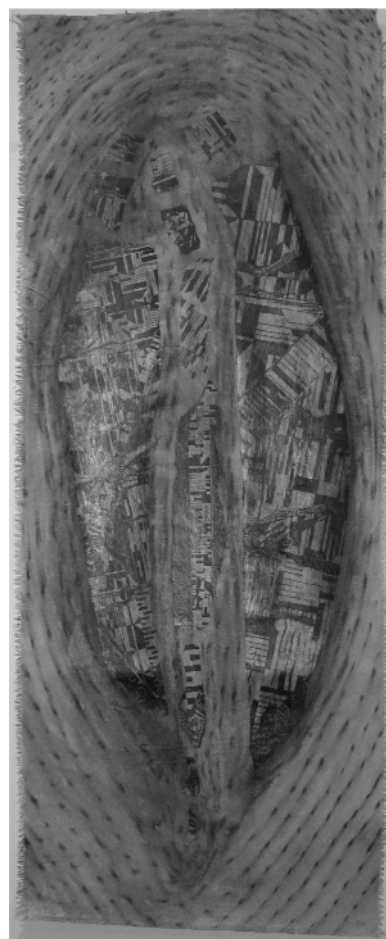
A kísérleti textil lecsengése után megújuló gobelinművészet jeles képviselője, munkássága a nyolcvanas években nagy lendülettel indult, amit elnyert díjai, valamint nagyszámú egyéni és

csoportos kiállítása is jelez. A nagyon tradicionális gobelinteknikát kreatív módon átértelmezve, formabontóan modern megjelenítésekben alkalmazza geometrikus (főleg a háromszögre mint geometriai elemre építő) gobelinjein, minitextiljein vagy éppen monumentális méretű textiltekercein. A textiltechnikában sajátjaként

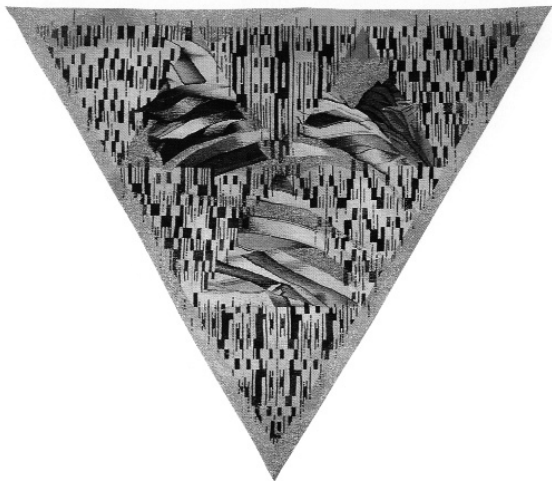
kialakított formavilágot emellett grafika-, kollázs-, tuskép-, festés- vagy nyomatechnikákkal papíron vagy textilhordozón, valamint az ezen eszközöket kombináltan alkalmazó applikációkon is használja. Munkáinak visszatérően megjelenő jellegzetessége az alakzat (a lehető legritkábban a megszokott téglalap, sokkal inkább háromszög, rombusz, hexagram vagy ezekből felépülő szabályos, esetleg kevésbé szabályos idomokat tartalmazó geometrikus alakok) által képviselt mértaniasság és az azon belül ábrázolt dinamikus-organikus élő formák kettőssége.



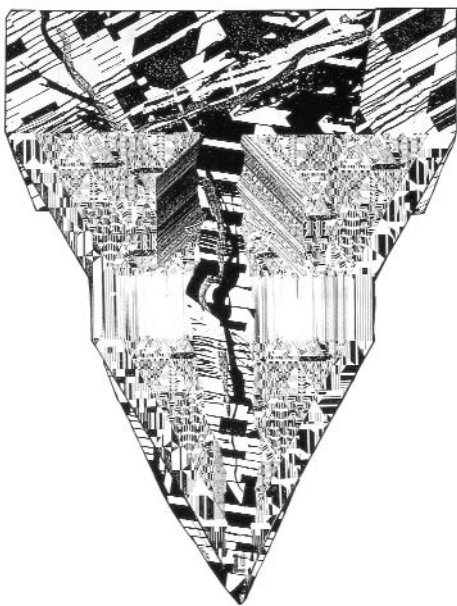
Lencsés Ida, *Bolyongás* (1998) csokoládépapír, cérna



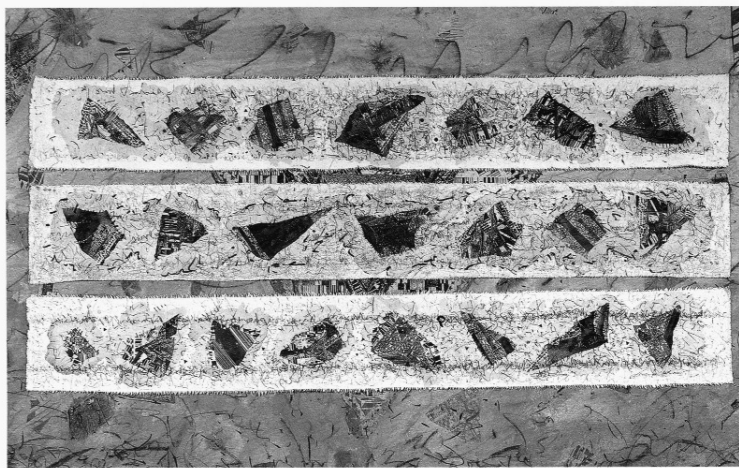
Lencsés Ida, *Maini tekercs II.* (2007), festett vászon, ragasztás



Lencsés Ida, *Emlékezés I.* (1995) gobelin, gyapjú, selyem, fémszál



Lencsés Ida, *Rend IV.* (1996), kollázs, papír



Lencsés Ida, *Primer tekercs I-III.* (1998) festett vászon

CTB-2008



4th Central European Conference Chemistry towards Biology

8-11 September, 2008
Dobogókő, Hungary

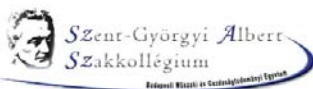
<http://ctb4.chem.elte.hu>
E-mail: ctb4org@chem.elte.hu

The focus of CTB4 is structure and interaction of proteins with:

- Peptides, Peptidomimetics & Proteins
- Metal ions
- DNA, RNA, PNA
- Carbohydrates & Glycomimetics
- Organic Ligands

Invited speakers include:

- | | |
|-------------------------|------------------------|
| I. Bertini (Italy) | C. Noe (Austria) |
| I. Campbell (UK) | J. Plavec (Slovenia) |
| C. Luchinat (Italy) | J. Polanski (Poland) |
| D.J. Manstein (Germany) | O. Zerbe (Switzerland) |



A BME Szent-Györgyi Albert Szakkollégium szervezésében megrendezésre kerül a

II. Szent-Györgyi Albert Konferencia

GYÓGY(?)SZEREK Kezdeti ötletektől a fogyasztókig

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, 2008. március 7-8.

A rendezvényre hallgatók és PhD-hallgatók jelentkezését várjuk gyógyszerekkel kapcsolatos (gyógyszerkutatás, -technológia és -hatástan, természetes hatóanyagok stb.) kutatási és fejlesztési témákkal, munkákkal.

A konferenciára a jelentkezés és az előadás-összefoglalók leadási határideje: **2008. február 15.**

A rendezvénnyel, a jelentkezéssel és a szállással kapcsolatos részletes információk megtalálhatók a konferencia honlapján (<http://szaszkonferencia.uw.hu>).

E-mail: szasz.bme@gmail.com
postacím: Szent-Györgyi Albert Szakkollégium,
1111 Budapest, Stoczek u. 5-7.
telefon: (30) 910-2509 (Hudecz Diána)



High Performance PCR from Finnzymes



Speed • Fidelity • Yield • Specificity



kvalitex

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

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