

XXVII. OTDK BIOLÓGIA SZEKCIÓ

PROGRAM ÉS ÖSSZEFOGLALÓK



2005. MÁRCIUS 21-24, PÉCS



Az opiátok szerepének vizsgálata a prekondicionálás korai antiarrhythmias hatásában

Balog Gábor
V. évf. biológus
SZTE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet
témavezető: Dr. Végh Ágnes

Korábbi kísérleteinkben igazoltuk, hogy altatott kutyában, a rövid ideig tartó koszorúér okklúziók sorozata, amelyet prekondicionálásnak nevezünk, számottevő védőhatást biztosít az ismételt fellépő, de immáron hosszabb ideig tartó ischaemia és reperfúzió során kialakuló, gyakran fatális kimenetelű arrhythmiaikkal szemben.

Jelen kísérleteinkben arra a kérdésre kerestük a választ, vajon az endogén opioidoknak szerepük van-e a prekondicionálás antiarrhythmias hatásában. Kísérleteinket 32 kloralóz-uretán keverékével altatott kutyák négy csoportjában végeztük. A kontroll csoportban (C; n = 10) a mellkas megnyitását követően myocardialis ischaemiát a bal coronaria artéria elülső leszálló ágának (LAD) 25 perces elzárásával alakítottunk ki, amelyet gyors reperfúzió követett. A prekondicionált állatokban (PC; n = 10), 20 perccel a 25 perces LAD okklúziót megelőzően az eret, 20 perces időközzel, kétszer 5 percre elzártuk. Nyolc kutyában (PC + Naloxon) a prekondicionáló okklúziók előtt 10 perccel 3 mg/kg Naloxont adtunk bolus injekcióban, majd ezt követően azonnal indítottuk a Naloxon infúziót (70 µg/kg), amelyet 60 percen keresztül tartottunk fenn. Négy állatban (C + Naloxon) hasonló naloxon kezelést végeztünk a hosszú okklúzió előtt. A kontroll csoporthoz képest a prekondicionálás szignifikánsan csökkentette a 25 perces okklúzió alatt megjelenő kamrai extrasystolék (ES; 350 ± 30 vs. 40 ± 10 ; $P < 0.05$) számát és az okklúzió alatti kamrafibrilláció (VF; 0 vs. 40 %) gyakoriságát. Szemben a kontroll csoporttal, amelyben minden állat kamrafibrillációban elpusztult a reperfúzió során, a prekondicionált kutyák 50 %-a túlélte a kombinált okklúziós-reperfúziós inzultust. A naloxon önmagában nem befolyásolta az okklúzió/reperfúzió során megjelenő kamrai arrhythmias súlyosságát, de mérsékelte a prekondicionálás antiarrhythmias hatását. Naloxon jelenlétében prekondicionált kutyák közül 2 állatban VF lépett fel a prekondicionálás során és a maradék 6 kutya közül 1 fibrillált az okklúzió alatt. Abban az 5 állatban, amely túlélte az okklúziós periódust, átlag 129 ± 76 ES-t találtunk; ez több volt mint a PC kutyákban, de szignifikánsan kevesebb, mint a kontroll állatokban. A naloxonnal kezelt prekondicionált kutyák 80 %-ában VF lépett fel a reperfúzió során és mindössze 1 állat élte túl (17 %) az okklúziós/reperfúziós inzultust. Kísérleteinkből arra következtettünk, hogy mivel a specifikus, de nem szelektív opiát receptor antagonistá Naloxon csak mérsékelte, de teljes mértékben nem szüntette meg a prekondicionálás antiarrhythmias hatását, az endogén opioidoknak, csak más mediátorokkal együtt (bradikinin, nitrogén oxid) lehet szerepük a prekondicionálás korai antiarrhythmias hatásában.

ALLEL 2

Ólom hatásának vizsgálata a vadkacsa és a tyúk embriogenezisének korai szakaszában

Farkas Beáta
V. évf. zoológus
SZIE, ÁOTK Állattani és Ökológiai Tanszék
témavezető: Kertész Virág

Madarak tojásaival végzett toxikológiai vizsgálatokat nagyobb számban az 1950-es évektől végeznek. Ezen vizsgálatok szükségességét alátámasztja az a tény, hogy felszíni vizeinkben jelentős mennyiségű szennyezőanyag, ezen belül nehézfém jut ki a különböző ipari tevékenységek kapcsán. Sajátos anyagcsere-vonatkozásaik következtében a madarak érzékenyen reagálnak a xenobiotikumokra, ezáltal a környezetszennyezés igen érzékeny bioindikátorai. A vízimadarak esetében ez a kijelentés fokozottan érvényesül, hiszen a szintetikus vegyszerek, a nehézfémek, a nitríték elsősorban a tavakban és a folyókban, valamint a lefolyástalan területeken halmozódnak fel.

A dolgozatban az ólom-acetát felszíni vizekben előforduló koncentrációjának hatását vizsgáltuk vadkacsa tojásokban (*Anas platyrhynchos*), valamint egy előkísérlet során tyúktojásokban (Shaver Starcross 579 tojóhibrid). A vizsgált koncentrációk 0.1 mg/l, mint a felszíni vizek jellemző értéke, illetve 1 és 10 mg/l voltak. A tenyésztőtojásokat az inkubáció kezdete előtt 30 percig fűrésztöttük az oldatokban, majd keltetőgépbe helyeztük azokat. A vizsgálatokat az inkubáció második napján végeztük. A tojásbontást követően olyan korai morfológiai bélyegeket kerestünk, melyek segítségével már az embrionális fejlődés kezdetén egyszerűen és gyorsan megállapítható, illetve mérhető a kezelés hatására fellépő elváltozás. A vizsgálandó morfológiai paraméterek közül elsősorban a szomiták kialakulását követtük nyomon, illetve arra kerestük a választ, hogy a tojásba jutó nehézfém befolyásolja-e az adott korú embrió jellemző szomita számát. Mindezek mellett más testi paraméterek okulár mikrométerrel történő mérését is elvégeztük.

A tyúkembriók vizsgálata során megállapítottuk, hogy a kontrollhoz képest szignifikáns mértékben csökkent a szomiták számának növekedési rátája, vagyis az ólomkezelés hatására csökkent a fejlődés üteme. A csökkenés mértéke nem volt koncentrációfüggő. Szintén minden kezelési csoportban szignifikánsan csökkent a csírákorongok átmérője a kor előrehaladtával. A csökkenés koncentrációfüggőséget mutatott. Vadkacsaembriók esetében a kontrolltól eltérőnek mutatkozott a kis és a nagy dóziscsoport szomitaszámának növekedési üteme, előbbiben csökkent, míg utóbbiban nőtt. A csírákorongok átmérője minden kezelési csoportban csökkenést mutatott a kontrollhoz képest az idő múlásával. A vizsgált paraméterek alapján elmondható, hogy az ólom mind a vadkacsa, mind az előkísérletben modellként alkalmazott tyúk embriók fejlődésére kedvezőtlen hatást gyakorolt. Azonban, míg a vadkacsa embrióknál a két nagyobb koncentráció a fejlődés kezdetén okozott nagyobb lemaradást, amit az idő előrehaladtával kompenzálni látszottak, addig a tyúk embriók a kezelés hatására a kor függvényében egyre nagyobb mértékű lemaradást mutattak a kontrollhoz képest.

ALLEL 3

5-amino-szalicilsav hatásmechanizmusának vizsgálata patkányban

Horváth Krisztina
2004., biológus
SZTE TTK Összehasonlító Élettani Tanszék
témavezető: Dr. Varga Csaba

A gyulladásozós bélbetegségek (inflammatory bowel disease - IBD) pathomechanizmusa a kiterjedt kutatások ellenére még kevésbé ismert. A különböző típusú megbetegedések (pl.: Crohn betegség) gyógykezelésében az 5-amino-szalicilsavat (5-ASA) régóta sikeresen alkalmazzák, pontos hatásmechanizmusát azonban nem ismerik. Ennek a folyamatnak a jobb megértése fontos lehet a betegség etiológiájának tisztázása szempontjából.

Kimutatták, hogy a bélepitheium-károsodás kialakulásában szerepet játszó faktorok közül az oxidatív stressz kulcsfontosságú szerepet játszik. Az oxidatív folyamatok jelenlétéből adódóan különböző antioxidáns enzimek szerepét is feltételezik a gyulladások csökkentésében. Egy ilyen antioxidáns enzim például a hem-oxigenáz-1 (HO-1) is, amelyről egyre nyilvánvalóbbá válik, hogy indukciója lényeges védelmi szerepet tölt be a gyomor-bélrendszer nyálkahártya integritása fenntartásában.

Célkitűzésünk az volt, hogy megvizsgáljuk az 5-amino-szalicilsav hatását HO-1 enzim indukciójára kísérletes Crohn betegség modellben. Az ún. TNBS modellben, a 2,4,6-trinitrobenzén-szulfonsav (TNBS) a patkányok vastagbélbe adva jelentős gyulladást okoz. Ez a modell jól reprodukálja a Crohn betegek jellemző makroszkópos, szöveti és immunológiai elváltozásokat, így széleskörűen használt és elfogadott az IBD tanulmányozásában. A TNBS kezelést (10 mg/állat, i.c.) követően mértük a gyulladások általános paramétereit (nyálkahártya léziók kiterjedését, a colon súlyának változásait, a mieloperoxidáz (MPO) enzim aktivitást és a TNF-alfa szintet), továbbá a HO-1 enzim aktivitásának és expressziójának változását 5-ASA előkezelés után. Végül a speciális HO aktivitásblokkoló, cink-protoporfirin (ZnPP) való együttes kezelés során tanulmányoztuk a mukóza léziók kiterjedésének változását.

A TNBS okozta nyálkahártyagyulladás mértékét az 5-ASA kezelés (8.3, 25, 75 mg/kg, i.c.) dózisfüggően csökkentette. Az 5-ASA kezelés képes volt indukálni a HO-1 enzim expresszióját és aktivitását mind a kontroll, mind pedig a TNBS kezelt állatokban. A ZnPP kezelés súlyosbította a TNBS-kiváltotta gyulladást, illetve felfüggesztette az 5-ASA protektív hatását.

Eredményeink alapján elmondható, hogy az 5-ASA védő hatásának egyik eleme a HO-1 enzim indukcióján keresztül zajlik. Az alkalmazott gyógyszerek hatásmechanizmusának pontosabb megismerésével újabb lehetőségek nyílnak az IBD hatékonyabb kezelésében.

ALLEL 4

Az ovariális luteinizáló hormon-releasing hormon (LHRH)-receptor funkcionális szerepe

Klausz Barbara
V. évf. biológus
PTE TTK, PTE ÁOK Anatómiai Intézet
témavezető: Dr. Rékási Zoltán

Az LHRH kulcsfontosságú szerepet játszik a reprodukív rendszer szabályozásában. Az utóbbi évek során a hipofízis mellett számos extrahipofízeális szövetben (pl. ovárium) sikerült az LHRH-receptor expresszióját kimutatni. Kérdéses maradt azonban ezen ovariális LHRH-receptorok funkcionális szerepe. *In vivo* kísérleteinkben az ovariális LHRH-receptor génextpresszióját vizsgáltuk a patkány ösztroz-ciklus függvényében összehasonlítva ugyanazon állat hipofízeális LHRH-receptor expressziójával. Az ösztroz ciklus fázisainak megfelelően naponta vett mintákból RT-multiplex PCR-rel határoztuk meg az LHRH-receptor mRNS expresszió mértékét. Egy hatékony LHRH agonista ($[D-Trp^6]$ -LHRH) illetve antagonistá (SB-75) (1 nM és 1 μ M) hatását is tanulmányoztuk szuperfúziós rendszerben az ovariális ösztrogén és progeszteron szekrécióra radioimmunoassay-vel. Vizsgáltuk továbbá ezen LHRH analógok (1 nM-10 μ M) sejtproliferációra kifejtett hatását egy humán ovariális hám-eredetű daganat sejtvonalon (OV-1063) MTT citotoxicitási teszttel. Eredményeink szerint a proösztroz napján éles emelkedés volt tapasztalható mind az ovariális, mind a hipofízeális sejtek LHRH-receptor génextpressziójában. Egyik LHRH analóg sem volt képes befolyásolni direkt hatással a szuperfúziós rendszerben tartott diszpergált ovárium sejtek ösztrogén és progeszteron alapszekrécióját. Ezzel szemben mind az LHRH agonista, mind az LHRH antagonistá dózis függően csökkentette a humán ovariális daganatsejtek proliferációját (maximális hatás: kb. 40% ill. 50%-os redukció volt). Kísérleti adataink alapján az ovariális LHRH-receptorok nem közvetítenek lokális hatást az ovariális szteroidok szintézisére, mivel egyik típusú ligand sem volt képes befolyásolni azt *in vitro*. Ugyanakkor az LHRH receptor génextpressziója ciklicitást mutat *in vivo*, melynek kialakulásában szerepet játszó faktorok vizsgálata további kutatás tárgyát képezi. Az analógok sejtproliferációt csökkentő hatása felveti egy autokrin/parakrin szabályozási mechanizmus létezését, melynek hátterében egy lokálisan termelődő LHRH-szerű anyag áll, mely a tumorális LHRH-receptoron keresztül befolyásolja a daganatsejtek proliferációját.

ALLEL 5

A nátrium-kalcium cseremechanizmust gátló SEA0400 hatásának jellemzése kutya és patkány szívizomsejteken

Kristóf Attila
V. évf. biológus
SZTE TTK, SZTE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet, SZTE TTK
Összehasonlító Élettani Tanszék
témavezetők: Dr. Virág László, Dr. Toldi József

Régóta ismeretes, hogy a nátrium-kalcium cseremechanizmus (NCX) fontos szerepet játszik a szívizomsejtek Ca^{2+} -háztartásában. Az NCX működésének elektrofiziológiai módszerekkel történő közvetlen vizsgálatára a mechanizmus elektrogén tulajdonsága ad lehetőséget. Specifikus gátlószer hiányában az NCX élettani funkciója farmakológiai megközelítéssel korábban nehezen volt vizsgálható. Az utóbbi években azonban számos NCX gátló hatással rendelkező molekulát leírtak. Ezek a gátlószer nagymértékben különböznek egymástól szelektivitásuk és az NCX reverz illetve forward irányú működésére kifejtett gátló hatásuk mértékének tekintetében. Jelenleg a leginkább szelektív NCX gátló molekulának a SEA0400-at ismeri el az irodalom. Számos közlemény elemezte a SEA0400 NCX-ra kifejtett hatásának mechanizmusát és a SEA0400 alkalmazásának következményeit a szívizomsejteken. A különböző kísérleti rendszerekben azonban gyakran nagyon eltérő eredmények születtek a SEA0400 gátló hatásának jellemzésében.

Kísérleteinkben célul tűztük ki a SEA0400 IC₅₀-ének meghatározását kétféle módszerrel. Kutya- és patkányszívizóból izolált sejteken patch clamp technikával vizsgáltuk az NCX működése során keletkező transzmembrán áramot. A kutya szívizomsejtek esetén az extracelluláris oldat és a pipettaoldat megfelelő összeállításával teljes mértékben gátoltuk a kálium-, kalcium- és nátrium-áramokat valamint a Na/K pumpaáramot. A szívizomsejteket -40 mV-os potenciálról indított, 20 s-onként ismétlődő rampfeszültségnek vetettük alá, amely +60 mV-tól (reverz irányú működés) -100 mV-ig terjedt (forward mód). Az ezen feszültségtartományban aktiválódó áramokból az NCX áramot a Ni^{2+} -szenzitív komponensként definiáltuk. Ebben a kísérleti rendszerben a SEA0400-at 0.1, 0.3, 1 és 3 μ M koncentrációkban alkalmazva meghatároztuk mind a reverz, mind pedig a forward módra kifejtett gátló hatás IC₅₀-ét. A patkány miociták esetében az NCX forward irányú működését vizsgáltuk a fiziológias Ca^{2+} -háztartás megtartása mellett. A sejtre pillanatszerűen 5 mM-os koffein-oldatot bocsátottunk. Ennek hatására a szarkoplazmatikus retikulumból felszabaduló nagy mennyiségű kalcium által aktivált NCX áramot regisztráltuk. Ezen kísérleti elrendezésben is meghatároztuk a SEA0400 gátló hatásának IC₅₀-ét.

Eredményeink szerint mindhárom IC₅₀ érték nagyon hasonló, amiből arra következtethetünk, hogy élettani ionkoncentrációkat alkalmazva különböző kísérleti rendszerekben is hasonló mértékű NCX gátlást érhetünk el.

ALLEG-6

A konstitutív nitrogénmonoxid szintáz és hem-oxigenáz enzimek interakciója a vaszkuláris endotélium integritása fenntartásában hím és nőstény patkányokban

Molnár Zita

V. évf. biológus

SZTE TTK, Összehasonlító Élettani Tanszék

émavezető: Dr. Varga Csaba, Ifj. Dr. László Ferenc

Bevezetés: A szívérrendszeri megbetegedések előfordulási gyakorisága nőkben alacsonyabb, mint férfiakban. A szexuális dimorfizmus a menopauza beállta után kiegyenlítődik. A jelenségért az endogén ösztrogén csökkent szintje tehető felelőssé, ami felveti a megfelelő hormonpótló terápia kifejlesztésének igényét. A kardiovaszkuláris ösztrogénhatások jobb megértése ezért is kulcsfontosságú. A véretek belső felszínét egyrétegű endoteliális sejtek bélelik, melyek épsége döntő fontosságú a vaszkuláris tónus szabályozásában. A vérben lévő anyagok, vagy a véráramlással összefüggő nyíró stressz stimuláló hatására az endoteliális sejtek képesek mind vazokonstriktor, mind vazodilatátor anyagok kibocsátására. Működésük egyensúlya a fiziológias állapot fenntartásához szükséges. A fontos endoteliális vazodilatátorok közé tartozó anyagok a nitrogénmonoxid (NO), amelyet a nitrogénmonoxid szintáz (NOS) és a szénmonoxid (CO), amelyet a hem-oxigenáz (HO) enzimek termelnek. Mindkét enzimsaládban két alapvetően eltérő altípus található, a konstitutívan működő (cNOS, illetve HO-2) és az induktív (iNOS, illetve HO-1). A cNOS enzim aktivitását az endogén ösztrogének serkentik, míg a HO-2 enzimről ebből a szempontból még nincs adat. **Célkitűzés:** A cNOS és HO enzimrendszerek expresszió szexuális dimorfizmusának vizsgálata, illetve azok esetleges interakciójának tisztázása a vaszkuláris endotélium integritása fenntartása szempontjából. **Módszerek:** Hím és nőstény Wistar patkányokban összehasonlítottuk 1./ az aortában és szívben a cNOS és HO enzimek expresszióját és aktivitását; 2./ a hirtelen vér-nyomásingadozás következtében kialakuló szívizomizkémia való hajlamot (ST-szakasz depresszió a felszíni EKG standard II elvezetésében); és 3./ a vaszkuláris endotélium integritásának változását (albumin extravazációs technika, ileum) endotoxin (LPS, 3 mg/kg, i.v.) adagolását követően egy órával *in vivo*. **Eredmények:** Kimutattuk, hogy 1./ nőstényekben a cNOS és HO enzimaktivitás, illetve a HO-2 enzimexpresszió (Western Blot) nagyobb az aortában és szívben, mint a hímelekben; 2./ a hímelek hajlamosabbak szívizomizkémia, mint a nőstények. A cNOS gátlása N^G-nitro-L-arginin metil észterrel (L-NAME, 5mg/kg, s.c.) vagy ón-protoporfirinnel (SnPP, 30mg/kg, s.c.) mindkét nemből a szívizomizkémia súlyosbodására vezetett; 3./ a cNOS és/vagy HO enzimek gátlása L-NAME-mel (5mg/kg, s.c.) és/vagy SnPP-vel (30mg/kg, s.c.) önmagában vagy kombinációban egyik nemből sem vezetett vaszkuláris endoteliális diszfunkcióra (az albumin extravazáció növekedésére). Az LPS önmagában sem, hímelekben sem nőstényekben nem okozott albumin extravazációt. Az LPS+L-NAME vagy az LPS+SnPP csak hímelekben alakított ki extravazációt. Az LPS+L-NAME+SnPP együttes kezelés hatására az albumin extravazáció nőstényekben is létrejött. **Következtetés:** A HO és NO rendszerek pozitív interakcióban védik a kardiovaszkuláris rendszert. A hímelek szívérrendszeri inzultusokkal szembeni csökkent ellenálló képessége összefügg az alacsonyabb HO és cNOS enzimexpresszióval.

ALLEG-7

A szerin és tirozin foszfatázok szerepe az interendotheliális junkciók szabályozásában

Nagyósi Péter

IV. évf. biológus

SZTE TTK Biotechnológiai Tanszék

témavezető: Dr. Krizbai István

Az agyi kapillárisok endothelisejteinek kiemelkedő szerepe van a vér-agy gát létrehozásában és ezáltal a központi idegrendszer (KIR) homeosztázisának biztosításában.

A barrier funkció ellátásában elsősorban az endothelisejtek közötti szoros zárókapcsolatok (zonula occludens, tight junction) és adherens kapcsolatok (zonula adherens, adherens junction) vesznek részt. Az interendotheliális junkciókat az egymással összekapcsolódó transzmembrán, membrán-kötött és citoplazmatikus fehérjék alkotják, amelyek szabályozása gyakran foszforiláció útján valósul meg.

Célunk az volt, hogy megvizsgáljuk, mi a szerepe a szerin/treonin és tirozin foszfatázoknak a junkcionális fehérjék funkciójának szabályozásában. A kísérleteinket primér patkány agyi endothelisejt tenyészeteken (RBEC) és immortalizált patkány agyi endothelisejtek (GP8) végeztük, melyek *in vitro* is jól megőrzik a vér-agy gát tulajdonságokat. Vizsgálatainkat kiegészítettük kutya vese epithelisejtek (MDCK) végzett kísérletekkel.

Kutatásaink során kimutattuk, hogy a fenilazén oxid (PAO), ami a tirozin foszfatázok egy hatékony gátlószere, erős tirozin foszforilációt okozott az 50-130 kDa-os tartományban levő fehérjéken, elsősorban a Triton X-100 inszolubilis frakcióban. Az erőteljes tirozin foszforiláció a tight junction és adherens junction két transzmembrán fehérjéje, az occludin és a cadherin expressziójának csökkenéséhez vezetett. Ugyanakkor a PAO-val való kezelés hatására a ZO-2, illetve az α - és β -catenin redisztribúciója történt a Triton X-100 inszolubilis frakcióba.

Ezen eredményeknek megfelelően az immunfluoreszcens vizsgálataink változásokat mutattak ki a junkcionális fehérjék elhelyezkedésében. A claudin-5 esetében a folytonos membránfestés szakadozottá vált, a β -catenin és a ZO-2 esetében pedig teljesen megszűnt. Mindezen változások funkcionális következménye a transzendotheliális ellenállás (TEER) jelentős csökkenése volt, amely a junkcionális integritás egyik legérzékenyebb fokmérője.

MDCK sejteken végzett vizsgálataink során kimutattuk, hogy a PAO kezelés hasonló hatást fejt ki epithelisejtekben is. A kezelés következtében az occludin és a cadherin mennyisége is mindkét frakcióban csökkent. Ugyanakkor az α -catenin és a ZO-1 redisztribúciója történt, előbbi az inszolubilis, utóbbi pedig a szolubilis frakcióba. A protein foszfatáz 1 és 2A okadasavval (OA) történt gátlása szintúgy elősegítette az occludin csökkenését a szolubilis frakcióban, amit a ZO-2 kevésbé kifejezett redisztribúciója kísért. Ennek megfelelően immunfluoreszcens vizsgálataink során azt találtuk, hogy az occludin festése a sejtmembránban teljesen eltűnt, míg a ZO-2 és a claudin-5 esetében szakadozottá vált.

Eredményeink arra engednek következtetni, hogy a szerin/treonin és/vagy tirozin foszforiláció-függő mechanizmusok direkt vagy indirekt módon befolyásolhatják a junkcionális fehérjék funkcióját, aminek jelentős hatása lehet az agyi endothelisejtek barrier tulajdonságaira.

ALLEL 8

Lipopoliszacharid hatása agyi endotélsejtekre

Pásztói Mária

V. évf. biológus

MTA SZBK Biofizikai Intézet, SZTE TTK Összehasonlító Élettani Tanszék
témavezető: Dr. Deli Mária, Dr. Toldi József

A Gram-negatív baktériumok külső sejt falának fő komponense a lipopoliszacharid (LPS), vagy endotoxin. Az LPS felelős a Gram-negatív baktériumok okozta fertőzésekben a súlyos gyulladáshoz vezető válaszreakciók beindításáért, ami szeptikus shockhoz, sokszervi elégtelenséghez, és halálhoz vezethet. Az LPS a vér-agy gát épségét és működését is károsíthatja. Kísérleteink célja az volt, hogy az LPS által kiváltott változásokat primer patkány agyi endotélsejt és primer patkány asztrogliá *in vitro* kokultúra modellen tanulmányozzuk, és a hatás kivédésére alkalmas molekulát találjunk.

LPS kezelés hatására az agyi endotél egysejtrétegek integritása dózis-, és időfüggő módon károsodott. A transzendenteliális elektromos ellenállás a kezelést követő 6 óra alatt folyamatosan csökkent és mélypontot ért el, majd a kezelés utáni 16. órára visszatért a kezelés előtti szint közelébe. Ezzel párhuzamosan nőtt a két jelzőanyag, a fluoreszcencia és az albumin átjutása az agyi endotélsejtrétegeken keresztül. LPS kezelt endotélsejtekben a szoros zárókapcsolatok (tight junction) fehérjéinek (ZO1, occludin, claudin-5) és a beta-catenin immunfestése szignifikánsan gyengült, valamint a festés mintázata is megváltozott. Az LPS kezelés a vér-agy gát működésének egyéb elemeire is hatással volt. Az agyi endotélsejtek fontos efflux pumpájának, a P-glycoproteinnek aktivitását is gátolta. Emellett LPS-sel kezelt agyi endotélsejtekben mind a reaktív oxigén származékok, mind a nitrogén monoxid termelése fokozódott. A szabadgyök termelés növekedése egyik eleme lehet az LPS patomechanizmusának. A pentozan poliszulfát, egy erősen negatív töltésű glükózaminoglikán szerkezetű vegyület jelentősen csökkentette az LPS-nek a permeabilitásra, a P-glycoprotein aktivitásra, és a szabadgyök termelésre gyakorolt károsító hatását.

Kimutattuk, hogy az LPS az agyi endotélsejtekben nem csak az egysejtrétegek permeabilitását fokozza, hanem hatással van az efflux pumpa működésére is, és növeli a szabadgyök képződést. Igazoltuk, hogy a pentozan LPS-kezelt agyi endotélsejteken is protektív hatású.

ALLEL 9

Raloxifen és arginin vazopresszin kardiovaszkuláris interakciójának vizsgálata ovariektomizált patkányokban

Pósa Anikó

2004., biológus

SZTE TTK Összehasonlító Élettani Tanszék

témavezetők: Dr. Varga Csaba, Dr. László Ferenc

A nők vérnyomása és kardiovaszkuláris megbetegedésekre való hajlama a menopauza beálltakor jelentősen emelkedik. A jelenségért főként az endogén ösztrogén hiánya tehető felelőssé. A menopauzában történő ösztrogén terápia azonban nem hozta meg a tőle várható pozitív eredményt. A szelektív ösztrogén receptor modulátorokat (SERM) oszteoporózisban világszerte alkalmazzák, ahol biztonságosságukat igazolták. A SERM-ek az emlőre és ivarszervekre vonatkozóan ösztrogén antagonistaként, amíg a csontokban és kardiovaszkuláris rendszerben agonistaként viselkednek. Az általunk is alkalmazott SERM vegyületnek a raloxifennek, a kardiovaszkuláris rendszerre kifejtett hatását vizsgáltuk kísérletes menopauzában.

Hipotézis: A raloxifen csökkenti a vazopresszin-ozokta (AVP) fokozott érösszehűződést, vérnyomásnövekedést kísérletes menopauzában.

Módszer: Kísérletsorozatunkban áloperált nőstény, ovariektomizált (OVX), 17- β -ösztradiol (0.1 mg/kg/nap) és raloxifen (0.33-1.0 mg/kg/nap) szubsztituált (p.o., 2 hét) ovariektomizált (OVX) Wistar patkányokat használtunk. Valamennyi csoportban meghatároztuk:

1./ a plazma vazopresszin szintjét; 2./ IN VIVO: a bazális vérnyomást, a vazopresszin (0.02-0.06-1.8 μ g/kg, i.v.)-ozokta vérnyomás emelkedést. 3./ IN VITRO: a vazopresszinre adott aorta kontrakciót (2.0 μ g/ml AVP) és szívperfúziós választ (1.0-3.0-10.0 μ g/ml AVP) (izolált Langendorff szív).

Eredmények: Azt tapasztaltuk, hogy a nőstényekhez viszonyítva az OVX 1./ növeli a plazma vazopresszin szintet, 2./ emeli a bazális artériás középnyomást és a vazopresszinre adott vérnyomásválaszt. 3./ fokozza az aortagyűrű kontraktilitását és az izolált Langendorff szív perfúzióját. A raloxifen és a 17- β -ösztradiol szubsztitúció valamennyi OVX-kiváltotta eltérést a nőstényekben észlelt szintre állította vissza.

Következtetés: Az OVX-kiváltotta fokozott vazokonstriktív hajlam kialakulásában szerepet játszhat az emelkedett endogén vazopresszin kiválasztás. A SERM raloxifen csökkenti az exogén vazopresszinre adott fokozott érkontraktilitási választ kísérletes menopauzában. A raloxifen vaszkuláris protektív effektus vonatkozásban ösztrogén agonistaként viselkedik az általunk alkalmazott rendszerekben.

ALLEL-10

Az endogén ösztrogén hemoxigenáz enzim up-reguláció révén védi aszövetiszkémiával szemben patkányban

Priger Petra,
V.évf. biológus
SZTE TTK Összehasonlító Élettani Tanszék
témavezetők: Dr. Varga Csaba, Ifj. Dr. László Ferenc,

Bevezetés: Menopauzában drámaian nő a kardiovaszkuláris morbiditás. A jelenség kialakulásában az endogén ösztrogének csökkent szintje kulcsfontosságú szerepet játszik. Közismert, hogy az endogén ösztrogének a nitrogénmonoxid (NO) rendszer aktivációján át is kifejtik protektív hatásukat. A legújabb kutatások szerint a hemoxigenáz enzim által termelt szénmonoxid (CO) az NO-hoz hasonló élettani effektussal rendelkezik. A HO rendszer szabályozása azonban még kevésbé tisztázott.

Célkitűzés: A konstitutív kardiovaszkuláris HO-2 enzim endogén ösztrogén-közvetítette szabályozásának és annak esetleges antianginás hatásának tisztázása *in vivo* modellrendszerben.

Módszerek: Kísérletünkben nőstény, ovariectómizált (OVX) és 17- β -ösztradiollal kezelt (0.1 mg/kg/nap, 2 hét) OVX Wistar patkányok szívében meghatároztuk a HO enzim aktivitását, a HO-2 enzim expresszióját (Western Blott), és az adrenalin (10 μ g/kg, i.v.) plusz fentolamin (15 mg/kg, i.v., 30 másodperccel az adrenalin után) kiváltotta ST-szakasz depressziót a testfelszíni EKG standard II elvezetésében.

Eredmények: Azt tapasztaltuk, hogy az intakt nőstények szívében a HO enzimaktivitás, illetve HO-2 enzim expresszió nagyobb mint az OVX állatokban. Az adrenalin+fentolamin adagolásával a nőstényekben nem, míg OVX állatokban szignifikáns ST-szakasz depresszió jött létre. Az OVX állatok 17- β -ösztadiol szubsztitúciója úgy a HO enzim aktivitását, mint az ST-szakasz depressziót az intakt nőstények szintjére állította vissza. A HO enzim gátló ön-protoporfin (SnPP, 30 mg/kg, s.c.) előkezelés (24 és 1 óra) súlyosította az OVX állatokban az ST-szakasz depressziót, amíg az intakt nőstényekben és a 17- β -ösztadiollal szubsztituált OVX állatokban kialakult a szignifikáns ST-szakasz depresszió.

Következtetés: Az endogén ösztrogén a szívben - az endoteliális NOS-hoz hasonlóan - HO-2 enzim up-regulációt okoz, amely szerepet játszik a szív iszkémiával szembeni védelmi mechanizmusában.

ALLEL-11

Egy endocannabinoid, az arachidonil-etanolamid hatásának vizsgálata kísérletes szívizom infarktus korai szakaszában, éber patkányban

Sebestyén Ildikó
V. évf. biológus
SZTE TTK, SZTE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet
témavezető: Dr. Leprán István

Az arachidonil-etanolamid a membrán foszfolipidekből keletkező arachidonsav származék, amely a cannabinoid receptorok endogén ligandja. Jelen kísérleteinkben ennek az arachidonsav származéknak a hatását vizsgáltuk kísérletes szívizom infarktus korai szakaszában.

Kísérleteinket hím, Sprague-Dawley patkányokon végeztük. Éteraltatásban, mellkas nyitást követően laza ligatúrát helyeztünk el a bal koronária artéria leszálló ága köré, majd a mellkast zártuk. Egy hét elteltével, a műtétből felépült állatokon éber állapotban a fonal meghúzásával akut szívizom infarktust hoztunk létre, folyamatos EKG regisztrálás mellett.

A referencia szerként alkalmazott III. osztályba tartozó antiaritmiás szer, a tedisamil (0,3 mg/kg i.v., 10 perccel a koronária lekötése előtt) jelentős mértékben növelte a túlélő állatok arányát (100% vs. 18% a kontroll csoportban), csökkentette az irreverzibilis kamrafibrillációk előfordulását, valamint jelentősen mérsékelte a kamrai aritmiák megjelenését és időtartamát.

Az arachidonil-etanolamid 0,1 mg/kg dózisban (i.v., 10 perccel a koronária lekötése előtt) protektív hatást nem mutatott, 0,3 mg/kg dózisban azonban hatékonyan bizonyult a szívizominfarktus akut szakaszában megjelenő aritmiák megelőzésében (VF: 47% vs. 82% a kontroll csoportban, VT: 77% vs. 100% a kontroll csoportban), továbbá jelentős mértékben növelte a túlélő állatok arányát (53% vs. 18% a kontroll csoportban). Magasabb dózis esetében (1 mg/kg i.v., 10 perccel a koronária lekötése előtt) nem javította a túlélést és nem befolyásolta jelentősen a kialakuló aritmiák súlyosságát. Ezen dózis hatástalanságát - irodalmi adatok és saját altatott patkányokon végzett előkísérleteink alapján - magyarázhatja a szer által előidézett erőteljes vérnyomáscsökkenés.

Eredményeink szerint, éber patkányban az exogén arachidonil-etanolamid szűk tartományban védő hatást fejt ki a szívizominfarktus következtében fellépő, életet veszélyeztető korai kamrai aritmiák ellen.

ARCH 1

Zsigmond-kori kúttelelet archaeobotanikai vizsgálata

Bacsó Renáta,
2004., kertészmérnök
BCE KTK, Genetika és Kertészeti Növénynevelés Tanszék
témavezetők: Dr. Velich István, Dr. Bisztray György Dénes, Dr. Facsar Géza, Dr.
Gyulai Ferenc

Egy budapesti ásatás során feltárt középkori pince ciszternájában megközelítőleg 600 éves növényi magvakra leltek. Az archaeobotanikai tisztítást követően a mintát osztályozva nagy mennyiségű, 16 fajhoz tartozó, ép állapotban megőrződött magvat találtak (*Vitis vinifera ssp. Vinifera*, *Prunus persica*, *Citrullus lanatus*, *Cucumis sp.*, *Juglans regia*, *Cerasus avium/vulgaris*, *Prunus domestica*, *Cornus mas*, *Prunus amygdalus*, *Corylus avellana*, *Mespilus germanica*, *Prunus spinosa*, *Setaria viridis/verticillata*, *Malus/Pyrus domestica*, *Morus nigra*, *Apium graveolens*).

Minden csoportból kiemeltük a legjobb állapotban megőrződött magvakát. E szubfossziliákban steril körülmények között az endospermium meglétét, illetve hiányát vizsgáltuk, mely a szőlő (*Vitis vinifera*) és a som (*Cornus mas*) esetében járt leginkább sikerrel. Ezen mintákban nagy arányú volt az endospermium, illetve az embrió maradványainak megléte. Ezekből mintát véve DNEasy mini kit segítségével DNS-t vontunk ki, amit RAPD-PCR-technikával vizsgáltunk. A som magvakból kivont DNS-t amplifikálva 1500 bp nagyságú fragmenst is sikerült detektálnunk, ami lehetővé teszi a minta mai somokkal való összevetését.

ARCH 2

Paleopatológiai vizsgálatok egy XII-XVI. századi temető (Nyárlőrinc Hangár út) leletein

Balázs János, Bölkei Zoltán
V. évf. biológia
SZTE TTK Embertani Tanszék
témavezető: Dr. Marcsik Antónia

A paleopatológia kifejezés a palaois (ősi) és pathos (szervedő) görög szavakból ered és az antropológiának azt az ágát jelöli, amely történelmi csontanyagot kimutatható kóros elváltozásokkal foglalkozik. A paleopatológiai vizsgálatok az ásatásokból előkerült embertani szériák tanulmányozása során a hagyományos antropológiai módszerekkel történő kutatásokat kiegészítik és hozzájárulnak a történelmi embertani kutatások elsődleges céljának, az egykor élt népesség biológiai rekonstrukciójának a megvalósításához.

Vizsgálataink célja a Nyárlőrinc Hangár úti régészeti lelőhely (feltárását végezte: Székely György) embertani anyagának paleopatológiai elemzése.

Munkánk során elsősorban makromorfológiai módszereket alkalmaztunk, melyeket esetenként radiológiai elemzéssel egészítettünk ki, továbbá a tuberkulózist okozó *Mycobacterium tuberculosis* jelenlétének bizonyítására felhasználtuk a molekuláris antropológia nyújtotta lehetőségeket is.

Az egyes jelenségek diagnosztizálása során sokszor problémát okozott a csontvázletek rossz megtartási állapota, illetve a posztmortális (halál utáni) elváltozások elkülönítése, melyek patológiás jellegzetességeket utánozhatnak (vagy esetleg elfedhetik azokat).

Ennek ellenére sikerült néhány fontosabb megállapítást tennünk:

- a csontvázak egyharmada gyermekektől származik (viszonylag magas gyermekhalandóság)
- más népességgel összehasonlítva alacsony a traumás elváltozások (pl. törések) száma
- a Kárpát-medencében az egyik hitelesen igazolt szifilisz megbetegedés Nyárlőrinc 17. századi temetőjéből került elő, de emellett egy másik egyén esetében is feltételezhető
- mind makroszkóposan, mind a *Mycobacterium tuberculosis* komplexre specifikus DNS-szakaszok megléte alapján sikerült igazolni (Ludwig Maximilians Tudományegyetem Patológiai Intézete, München) a tbc jelenlétét anyagunkban
- továbbá diagnosztizálhattuk egy nagyon súlyos osteomyelitis és egy erosiv arthropathia csonttani tüneteit.

ARCH 3

Paleopatológiai esetek diagnosztikai problémái

Bereczki Zsolt
2004., biológus
SZTE-TTK, Embertani Tanszék
témavezető: Dr. Marcsik Antónia

Történeti korokból származó csontleletek tanulmányozása során gyakran találkozunk azzal a problémával, hogy a csontokon ma megfigyelhető patológiai elváltozások alapján nem minden esetben lehet egyértelmű diagnózist felállítani. Ennek gyakran posztmortális oka van, de az is előfordulhat, hogy bár az elváltozások közvetlen kiváltó okát meg tudjuk ugyan állapítani, a teljes kórfolyamatot már nem lehet vázolni. Dolgozatomban néhány paleopatológiai eset diagnózisának nehézségeit mutatom be, melyek Hódmezővásárhely-Nagysziget X-XI. századi temetőjéből előkerült embertani széria vizsgálata során merültek fel.

A 20. sír férfi koponyájának bal falcsontján szabályos elliptikus karcolás látható. Az alakzat, melyet készítés során befejezetlenül hagytak, a jelképes trepanáció egy ritka, ovális-bekarcolós típusát képviseli.

A 65. sírban fekvő idős nő bal falcsontjának antero-mediális sarkában, a bregma közelében 3x2 cm-es jól gyógyult jelképes trepanáció látható. Mind készítési módját, mind lokalizációját tekintve a legelterjedtebb típusba sorolható.

A 76. sír férfi koponyája 6 cm átmérőjű, éles szerszám által okozott kerek nyílást hordoz a jobb falcsont közepén, amely leszűkülve folytatódik a halántékrégió irányában. A csontseb mindenképp szándékos emberi beavatkozásnak tekinthető. A kerek nyílás egy harci sérülés nyoma lehet, ám a sebkezelésre utaló jelek figyelembe vételével a jelenség egészét sebészi trepanációként kell interpretálni.

Az 55. sírban fekvő nő koponyájának jobb falcsontján mandulaalakú nyílás látható. A perem környéke porotikus, hipervaszularizált. A jelenséget legnagyobb valószínűséggel egy elfertőződött sebészi trepanáció okozhatta.

A 42. sír női csontvázán többféle egymással összefüggő tünet mutatkozik. A koponyán több helyen porotikus liziseket találunk, az axiális vázon pedig a felritkulások mellett kisebb-nagyobb bevonatszerű újcsontképződményeket. Az rfg-felvételek tumoros eredetet igazoltak, a daganattípusok közül a metasztatikus karcinóma tűnik legvalószínűbb kiváltó oknak.

A széria itt bemutatott patológiai esetein kívül kevés betegség nyoma figyelhető meg a csontokon. E léziók nagy többsége traumatikus eredetű, vagy az egyén magas elhalálási életkorával van összefüggésben. Az itt bemutatott speciális jelenségek pontos diagnosztizálása után két eset érdemel fokozott figyelmet: a ritka ovális-karcolt jelképes trepanáció (mely felveti az avar túlélés lehetőségét is) és az egész csontvázat érintő metasztatikus karcinóma.

ARCH 4

Abszolút méretek és arányok összefüggésrendszere koponyaleleteken

Csóri Zsuzsanna
V. évf. biológus-ökológus
DE TTK, Evolúciós Állattani és Humánbiológiai Tanszék
témavezető: Dr. Szathmáry László

Az embertani kutatásokban jelentős szerepet játszott Rudolf Martin 1928-ban kiadott kézikönyve, mely a különböző embertípusok részletes vizsgálata és leírása mellett máig alapul szolgál az egységesen alkalmazott méretrendszer révén a tudományos kutatásoknak. Az ebben leírt mérőpontok illetve méretek alapján olyan dimenziókat vizsgálhatunk, amelyek szakmai téren bármelyik korábbi vizsgálat eredményével összehasonlíthatóak. Összehasonlításra használják még ezen abszolút méretek kívül a belőlük számított arányokat, a jelzőket (indexeket). Jelen munkában arra a kérdésre végeztem becslést, hogy ezen két változórendszer – abszolút méretek és arányaik – milyen módon viszonyulnak egymáshoz.

Tanulmányom tíz reprezentatív 10., illetve 11. századi temető adatain alapul. Összesen 622 koponya méreteit és jelzőit elemeztem, a férfiakat és a nőket külön tekintve. Az elemzés főkomponens analízissel történt, tizenkét koponyaméretet kilenc koponyajelzővel együtt vizsgálva.

Az abszolút méretek és a koponyajelzők vizsgálatából kiderült, hogy a koponya jelzői döntő többségben nem súlyozódtak függetlenül, hanem az alapjukul szolgáló koponyadimenziókkal együtt szerepeltek egy főkomponensben. Az egy főkomponenshez súlyozódó változók között információátfedés van. Tehát, ha az abszolút méreteket és az azokból alkotott jelzőket együtt vizsgáljuk, ugyanazon információ épül be a többváltozós rendszerbe. A történeti anatómiai minták elemzésekor az abszolút és a relatív változók korrelációs összefüggéseinek ismerete okvetlenül szükséges.

A többváltozós elemzéseink számára a jelzők nem nyújthatnak az abszolút méretekhez képest új támpontokat. Egy recens megfigyelés is emellett érvel (Szilágyi, Szathmáry és Guba 1997), hiszen a fej abszolút méretei és arányai is jelentős mértékben korrelálnak. A jelzők talán csak az individuális megítéléshez alkalmazhatók egy előzetes diagnózis részeként. Persze kérdéses az, ha egy tényező csak az egyedüli összehasonlításban látszik hasznosnak, miért nem hasznos ez, statisztikai szempontból.

Összegzésül tehát megállapítható, hogy a jelzőket nem érdemes (elkülönítve) elemezni, hiszen az eredeti méreteket felhasználva, többváltozós analízissel jól becsülhetjük egy adott történeti népesség diverzitását kraniológiai szempontok alapján.

ARCH-5

A paleoradiológia módszertani lehetőségei

Kristóf Lilla Alida

V. évfolyam kulturális antropológia

Miskolci Egyetem BTK, Országos Gyógyintézeti Központ Radiológiai Osztály,
Budapest

témavezetők: Dr. Ilyés Zoltán, Dr. Pálfi György, Dr. Bata H. Miklós

1895-ben Wilhelm Conrad Röntgen német fizikus világraszóló felfedezést tett: azonosított egy addig ismeretlen sugárzást és elnevezte az X-sugárnak (röntgensugár). A felfedezés híre gyorsan elterjedt a világban, és a medicina szinte azonnal ráeszmélt rendkívüli hasznosságára a gyógyászat területén. Azóta a radiológia, egy új tudományágként, az orvoslás mindennapjainak részévé vált.

Az emberi test tanulmányozására irányuló radiológiai módszerek viszont nem korlátozódnak kizárólag az aktuális medicina területeire, hanem a régi emberi maradványokkal foglalkozó történeti antropológiában, valamint a kóros maradványokkal foglalkozó paleopatológiában is nagy haszonnal alkalmazhatóak. Jelen kutatás célkitűzései között egyes paleoradiológiai módszerek pontosítása, továbbá számos régi emberi maradvány kóros elváltozásainak röntgendiagnosztikája szerepel.

Az Országos Gyógyintézeti Központ Radiológiai Osztályán több mint harminc – főként avar, honfoglalás- és Árpád-kori régészeti feltárásokból származó – patológiás elváltozást mutató csontmaradványt tanulmányoztunk. A váci domonkos templom altemplomából származó 265 természetesen mumifikálódott emberi maradványból eddig 14 múmián végeztünk radiológiai vizsgálatokat.

A csontvázmaradványok leggyakoribb elváltozásai a traumák közé sorolhatók: *ulna fractura*, *clavicula fractura*, *borda fractura*, koponyát ért trauma utáni trepanáció. Számos degeneratív gerinc- és ízületi elváltozást (*osteophyta*, *spondylosis*, *arthrosis*) figyeltünk meg. Ritka paleopatológiai kórképek közül *rheumatoid arthritis*, Paget-kór, *facies leprosa*, tbc-s csigolyagyulladások említhetők. A múmiák vizsgálata során egyaránt napvilágra kerültek csigolya- és tüdő tbc, valamint traumás elváltozások.

Megfelelő paleoradiológiai módszertani szakirodalom hiányában vizsgálataink elvégzéséhez részben új metodika kidolgozására volt szükség.

ARCH-6

Kraniológiai becslés az Alföld népvándorlás-kori népességeinek továbbélésére vonatkozóan

Lenkey Zsuzsanna

2004., biológia

DE TTK, Evolúciós Állattani és Humánbiológiai Tanszék

témavezető: Dr. Szathmáry László

Munkámban a Magyarország területén élt gepida és késő avar populációk összehasonlítását mutatom be, mely összehasonlítást a felnőtt egyének tizenkét koponyamérete alapján végeztem. Vizsgálatom célja az volt, hogy e népességek kvantitatív anatómiai dimenziókon keresztül becsülhető homogenitását-heterogenitását, szegregációját, esetleges továbbélését rekonstruáljam.

Magyarország területén a gepida periódus 265-568-ig, a késő avar időszak pedig 670-894-ig tartott. Az északkelet-magyarországi Ároktő Csik-gát lelőhely feltárása során más korokba tartozó sírok mellett mellékleteik alapján a gepida, illetve késő avar korszakhoz sorolható sírok is előkerültek.

Elkülönítve a fiatalon elhunyt egyének maradványait összesen 57 férfi és 47 női koponyaleletet elemeztünk, melyek közül a gepida periódusba 4 férfi és 7 nő, a késő avar periódusba pedig 53 férfi és 40 nő tartozott.

A különböző időrendi mintákon az egyes változók esetében Dear módszerével hiánypótlást végeztem, majd nemenként külön-külön diszkriminancia-analízist, faktoranalízist végeztem.

A férfiak esetében a gepida periódusból vizsgált 4 egyed közül 3 (75%) jobban hasonlít a saját korának karakterisztikus típusaira, 1 (25%) egyed pedig az avarok típusára. A késő avar periódusból vizsgált 53 egyedből csak 5 (9,4%) hasonlít az e korszakot megelőző gepida időszak anatómiai variánsaira, és 48 (90,6%) a saját időszakának anatómiai típusára. A nőknél az arányok hasonlóan alakultak, itt a gepida periódusból az avar periódusba 2 (28,6%) egyedet soroltam át, és a saját korának karakterisztikus típusaira 5 (71,4%) egyed hasonlított. A késő avar időszakból vizsgált egyedek közül csak 4 (10%) hasonlít a gepida korra, és 36 (90%) a saját időrendi csoportjára. Ez a férfiak esetében nem annyira meglepő eredmény, azonban a nőknél már sokkal inkább, mert itt a szesszilis életmód miatt a továbbélés nagyobb százalékos arányát vártuk volna.

Az elért eredmények alapján összességében elmondható, hogy a kelet-magyarországi Ároktő Csik-gát lelőhelyen feltárt gepida kori és késő avar kori népességek között aránylag kevés összefüggés, illetve továbbélés mutatható ki. Az alacsony esetszám elsősorban a gepida minta esetében a konklúzió labilitását növeli.

ARCHÉ

Tuberkulózis elváltozások egy késő középkori embertani szériában

Lovász Gabriella
V.évf. biológus
SZTE TTK Embertani Tanszék
témavezető: Dr. Molnár Erika

A tuberkulózis az egyik legősibb fertőző megbetegedés, melyről az 1980-as években úgy gondolták, hogy kiszorul az emberiséget sújtó megbetegedések sorából. Napjainkban azonban újra támad és évi 3 millió áldozatával a legnagyobb számban halált okozó fertőző megbetegedés a világon. A tbc eredetének és járványtörténetének kutatása így újra aktuálissá vált.

Vizsgálatunk célja a tuberkulózis elváltozások megfigyelése a Bácsalmási 16-17. századi temető embertani leletein.

A temető feltárásának első időszakából előkerült 164 csontváz általános embertani és paleopatológiai elemzése már megtörtént, így vizsgálatunk tárgyát a későbbiekben feltárt 311 csontvázlelet képezte. A leletegyüttes első részében nagyon magas a tuberkulózis előfordulásának aránya, így indokolt a tbc kiemelt vizsgálata a széria második részében is.

Az elhalálási életkor és a sexus meghatározásánál az antropológiában általánosan használt módszereket alkalmaztuk. A paleopatológiai vizsgálatokat makroszkópos morfológiai módszerekkel végeztük, melyeket esetenként radiológiai vizsgálatokkal egészítettünk ki. A tbc vizsgálatok a betegség felismerésére korábban használt klasszikus csonttani tünetek mellett új diagnosztikai kritériumokat is alkalmaztunk, melyek a szakirodalmi adatok alapján szintén tuberkulózisra utalhatnak: endocranialis léziók, bordaelváltozások, csigolyák hypervascularisatiója. Emellett a kutatás során figyelembe vettünk két általános stressz faktort is, melyek a legyengült immunrendszerre, illetve a fertőzések iránti fokozott fogékonyságra mutathatnak.

A csontvázleletek sexus szerinti eloszlása a következő: 66 férfi, 67 nő és 178 nem meghatározható nemű egyén.

Vizsgálati anyagunkban előrehaladott stádiumú tuberkulózisra jellemző léziókat nem tapasztaltunk, a szintén tbc-re utaló új diagnosztikai kritériumok alapján azonban számos elváltozást figyeltünk meg. A legnagyobb számban előforduló endocranialis léziók a vizsgált népesség 14,71%-át, elsősorban a gyerekeket érintették. Csigolya-hypervascularisatio a csontvázleletek 10,29%-nál, míg a legkisebb arányban (5,14%) bordaelváltozások tapasztalhatók a szériában. A fenti léziók együttes megjelenését 65 esetben figyeltük meg, mely nagyban valószínűsíti a csonttani tünetek tuberkulózisos eredetét.

ARCHÉ

Új vizsgálati módszerek a humán csont maradványok antropológiai elemzésében

Patonai Zoltán
PTE ÁOK, Igazságügyi Orvostani Intézet, Biokémia és Orvosi Kémia Intézet
témavezető: Dr. Bajnóczky István, Márk László

Az emberi csont maradványok morfológiai vizsgálata rávilágíthat az elhunyt nemére, testmagasságára, esetleges életmódjára, elhalálzásának okára és időpontjára. Ideális esetben a feltárt maradványok viszonylag ép állapotban kerülnek elő és ezeket a vizsgálatokat jó eredménnyel végezhetjük el. Azonban bizonyos problémákba ütközünk, ha a csontváz töredékes (nem rendelkezünk kellő mennyiségű mérőponttal), vagy rajta található morfológiai jegyek nem egyértelműek, kételyre adnak okot. Ezért napjainkban a klasszikus embertani vizsgálatokat, mind jobban kiegészítik a kémiai vizsgálatok.

Jelenlegi munkánkban a Hódmezővásárhely–Gorzsa lelőhely (neolitikumtól a bronzkorig használt nagy jelentőségű település és temetkezési hely) humán csontmaradványait vizsgáltuk különböző kémiai eljárásokkal. A feltárást Dr. Horváth Ferenc (Egyetemi docens, Móra Ferenc Múzeum Szeged), az antropometriai elemzést Dr. Zoffmann Zsuzsanna antropológus végezte. A leletekből vett mintákon az általunk kifejlesztett kémiai módszerrel nem meghatározást végeztünk. Első lépésben nemi hormonokat (ösztrogén: ösztion, ösztadiol, ösztatriol és tesztoszteron) extrahálunk, majd elválasztottuk fordított fázisú folyadékkromatográfiás eljárással (RP-HPLC-DAD) és összevetettük az így kapott eredményt a morfológiai vizsgálatokkal végzett nem meghatározással. A porított csontokat egyéb kémiai vizsgálatoknak is alávetettük. Megvizsgáltuk DNA állományt (szintén alkalmas eljárás nem meghatározásra csak költséges), kollagén állományt, röntgen-diffrakciós és atomspektroszkópiás eljárásokat is végeztünk a mintákon.

Jelentősége ezeknek a vizsgálatoknak, hogy ennyire komplex módon még hazánkban nem vizsgáltak történeti csontmaradványokat. Szeretnénk eljárásunkat kiterjeszteni a nemi hormonok metabolitjainak meghatározására és lehetőségeink szerint a legszélesebb körű analitikai és kormeghatározási módszereket alkalmazni a régészeti leleteken, és a multidiszciplinális szemlélet módot kialakítani a régészeti kutatásokban.

ARCHÉ

A honfoglaló magyarok háziállatainak mitokondriális DNS alapú genetikai analízise

Priskin Katalin

IV. évf. biológus

SZTE TTK, MTA SZBK Genetikai Intézet, SZTE TTK Genetikai és Molekuláris

Biológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Raskó István, Dr. Maróy Péter

A honfoglaló magyarok életmódjáról, kultúrájáról jelentős mértékben felvilágosítást nyújtanak háziállataik, melyek genetikai összetétele utalhat területi mozgásukra, keveredésükre. A Kárpát medencébe érkező magyar törzsek életében legnagyobb szerepet játszó és sírjaikban legnagyobb számban megjelenő állatfajok: a ló, a szarvasmarha és a juh. Molekuláris genetikai módszerekkel vizsgálva az archaikus biológiai mintákat, közelebbi információkhoz juthatunk a honfoglalás kori állatállomány genetikai összetételét illetően.

Mivel mitokondriális DNS egy sejtben jóval nagyobb kópiaszámban fordul elő, mint a kromoszómális DNS, archaikus biológiai minták esetében, melyek DNS tartalma rendkívül csekély és degradálódott, a mitokondriális markerek vizsgálata az elsődleges.

A vizsgálatok során több hitelesen dokumentált magyarországi honfoglalás kori sírból származó ló-, szarvasmarha- és juhcsontot dolgoztunk fel, emellett a mai magyarországi állományokból is mintát vettünk. A szakirodalmat felhasználva olyan mitokondriális markereket kerestünk, melyek származástani szempontból relevánsak lehetnek. A mitokondriális DNS hipervariábilis régiójának bizonyos szakaszait előbb modern, majd archaikus mintákból felsokszoroztuk, és megszekvenáltuk. Ennek során eddig lovak esetében hat modern és egy archaikus minta, marhák esetében két modern és három archaikus minta került feldolgozásra, melyek mindegyikéből sikerült értékelhető szekvenciákat kapnunk. Juhoknál hat modern és három archaikus csontmintát vizsgáltunk meg, de eddig az archaikus minták közül csak egyből sikerült értékelhető eredményt nyernünk. Az eredményeket összehasonlítottuk a szakirodalmi, és az adatbázisban szereplő adatokkal. Eddigi kis számú adataink alapján alapvetően az a következtetés vonható le, hogy míg a lovak esetében lehetséges, a szarvasmarhák és juhok esetében nem figyelhető meg származástani szempontból jelentős eltérés az indoeurópai kládoctól. A honfoglalás kori szarvasmarha- és juhállományt reprezentáló, vizsgált egyedek nem állnak származástani kapcsolatban a honfoglaló magyarok korábbi, feltételezett ázsiai szálláshelyeiken ma elterjedt állományokkal, hanem genetikailag az európai leszármazási vonalhoz kapcsolódnak.

BIOKÉ

A Poli (ADP-Ribóz) Polimeráz-1 N-terminálisának klónozása, és a holoenzim vizsgálata

Belle Boglárka

V. évf. biológus

ELTE TTK, SE Orvosi Biokémiai Intézet

témavezetők: Dr. Bauer Pál, Dr. Kénesi Erzsébet

A poli (ADP-ribóz) polimeráz-1 fehérje poszttranszlációs módosítást, ADP-ribozilálást végez. Biológiai szerepe nem teljesen tisztázott, de bizonyosan szerepet játszik a replikációs és transzkripciós szabályozásban, a kromatin struktúra fellazításában, a DNS hibajavításban és az apoptózis/ nekrozis folyamatában.

Az N-terminális felől haladva tartalmaz két asszimmetrikus Zn-ujj szerkezetet, két NLS struktúrát, az ún. automodifikációs domént és az aktív centrumot tartalmazó C-terminális szakaszt.

Témavezetőm laboratóriuma az enzimműködés mechanizmusának, a fehérje-fehérje kölcsönhatásnak megismerésével, valamint speciális inhibitorok vizsgálatával foglalkozik. Mivel az N-terminális tartalmazó enzimet eddig nem sikerült kristályosítani, a holoenzim asszociációs sajátságának vizsgálata mellett, az N-terminális Zn-ujjakat és mutánsait próbálom expresszálni és DNS felismerő tulajdonságait elemezni.

Kísérletes módszerek:

bakteriális expresszió beállítása, klónozás és expresszió (holoenzim, Zn-ujj szakasz)

zárványtest renaturálás

klónozás baculovírus expressziós rendszerbe

asszociációs mérések FRET rendszerben

Eredmények és kudarcok:

Kudarcok:

bakteriális expresszió

renaturálás

Eredmények:

holo-enzim expresszió Sf9 sejtekben, tisztítás

FRET

kompetíciós kísérletek topoizomerázl és hisztonHI fehérjékkel

BIOLÓGIA

Proteolitikus enzimek szerepe a *Photorhabdus* rovarpatogén baktérium fertőzési folyamatában

Felföldi Gabriella
2004., biológus
ELTE TTK Biokémiai Tanszék
témavezető: Dr. Venekei István

A kísérleteimhez használt, *Photorhabdus* nemzetségbe tartozó baktériumtörzsek szimbiózisban élnek rovarpatogén *Heterorhabditis* sp. fonalférgekkel. A fonalféreg dauer lárvá formája behatol a rovar testfolyadékába, ott vedlik és kibocsátja szimbiota baktériumait, amelyek elszaporodnak és toxinjaik, valamint exoenzimeik segítségével elpusztítják a rovar.

Munkám első szakaszában különböző *Photorhabdus* törzsek proteáz termelését vizsgáltam és hasonlítottam össze négy különböző detektálási módszerrel [25]. Megállapítottam, hogy ezek a törzsek legalább négy különböző proteázt termelnek: a PrtA-t (amely korábbi vizsgálatokból már ismert volt), az OpdA-t (amely más Enterbakteriaceae-ba tartozó törzsből volt ismert), a Php-C-t és a Php-D (amelyet, nem lévén ismertek, mi neveztünk le így utalva eredetükre - *Photorhabdus* proteáz). Ezek a baktériumok különböző növekedési stádiumaiban jelennek meg, mind *in vitro*, kultúrában, mind *Galleria mellonella* (viaszmoly) rovarlárzában, *in vivo*. Az egyes proteázok termelése törzsenként eltéréseket mutatott, de a PrtA-t minden általam vizsgált *Photorhabdus* törzs termeli valamilyen mértékig, és minden esetben ez bizonyult a legkorábban megjelenő proteáznak.

Annak kiderítésére, hogy játszhat-e a PrtA valamilyen szerepet a rovar elpusztulásában, például az immunválasz semlegesítése útján, *Manduca sexta* (dohányzender) hernyójának testfolyadékában kerestem az enzim természetes szubsztrátját, azaz olyan fehérjét, amelyet a PrtA szelektíven hasít. Hat ilyen találtam, amelyeket PAS fehérjéknek neveztem el (PrtA Szubsztrát). Ezeknek a molekulatömegét meghatároztam gélelektroforézissel. Szelektív $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ kicsapással, valamint kromatográfias eljárásokkal közülük kettőt sikerült olyan mértékig megtisztítanom, hogy N-terminális szekvenálásuk lehetségessé vált. Az adatbázisokban található szekvencia hasonlóságok alapján az 52 kDa-os molekulatömegű (PAS-52) *Manduca* serpin-1 ként azonosítottam, amelynek egyik variánsáról ismert, hogy részt vesz a rovar immunválaszának szabályozásában. A másik, 110 kDa-os (PAS-110) fehérjét N-terminális szekvenciája alapján nem lehetett pontosan azonosítani, de szekvenciája szerint egy Jacalin szerű árpa lektinhez hasonlít a leginkább.

Megfigyeléseim valamivel megalapozottabbá tették azt a feltételezést, hogy a PrtA esetleg virulencia faktorként is szerepelhet a fertőzés során. Ennek igazolásához azonban feltétlenül szükséges többek között a PAS fehérjék további vizsgálata, teljes megtisztításuk, pontosabb azonosításuk, a PrtA-val való kölcsönhatásuk tanulmányozása, valamint annak megismerése, hogy termelődésük hogyan változik a rovar fertőződése során.

BIOLÓGIA

Antioxidáns paraméter változások gyermekkori asthma bronchialeban.

Magyar Veronika
V.évf. kémia, biológia 2004.
SZTE TTK Genetikai és Molekuláris Biológiai Tanszék
témavezető: Szöllősiné Dr. Varga Ilona

Az asthma bronchiale a leggyakoribb krónikus megbetegedés gyermekkorban, előfordulási gyakorisága Magyarországon meghaladja a 2%-ot. Az oxidatív stressz fontos jellemzője a legtöbb légzőszervi megbetegedésnek, így az asthmának is, amit az antioxidáns védelem általános csökkenése igazolhat.

A vizsgálat célja volt meghatározni, hogy az antioxidáns védelem hogyan alakul tünetmentes betegeknél, enyhe, illetve súlyos asthmás rohamban, valamint, hogy van-e összefüggés az oxidatív stressz fokozódása és a roham súlyossága között.

A SZTE Gyermekgyógyászati Klinika Pulmonológiai Szakrendeléséről, valamint a Svábhegyi Állami Gyermekgyógyintézetből kapott vérmintákat vizsgáltuk.

Az egyes csoportokban plazmából meghatároztuk a lipid peroxidáció (LP) mértékét a malondialdehid koncentráció alapján, a redukált glutation (GSH) tartalmat és az össz antioxidáns aktivitást. Hemolizátumból a LP és GSH tartalom mérése mellett meghatároztuk a kataláz, szuperoxid-dizmutáz (SOD) és a glutation-peroxidáz enzimek aktivitását.

Az oxidatív stressz fokozódására utal, hogy plazmában súlyos asthmás rohamban szignifikánsan magasabb LP értéket találtunk szignifikánsan alacsonyabb GSH tartalom mellett. Az össz antioxidáns státuszban nem találtunk változást. A hemolizátumban enyhe és súlyos rohamban is jelentősen emelkedett SOD aktivitásokat mértünk, emellett a glutation redox rendszer legfontosabb tagja, a GSH szignifikánsan csökkent mértékű volt.

Eredményeink alapján megállapíthatjuk, hogy az asthmás rohamot kiváltó tényezők jelentős gyöktermeléssel járó folyamatokat indítanak el. A gyökök eliminálására szolgáló védekező mechanizmusok aktiválódnak.

BLOK 1-4

Természetes fenolszármazékok hatása a szarkoplazmatikus retikulum Ca^{2+} -ATPázra

Nagy Georgina, Dobrosi Nóra
V. évf. biológus
DE TTK, DE OEC Élettani Intézet
témavezető: Dr. Szegedi Csaba

Az izomkontrakció és –relaxáció szabályozó szignálja az intracelluláris szabad kalcium koncentráció változása. Ha a küszöbingeret meghaladó stimulus éri az izmot, a felszíni membránon végigfutó akciós potenciál kialakulását a mioplazmatikus kalcium szint emelkedése követi. A kalcium felszabadulás során elsőként a T-tubulusok falában elhelyezkedő dihidropiridin receptorok konformáció változása következik be, amely az SR terminális ciszternáiban lévő rianodinreceptorokat (kalcium csatornákat) megnyitja és a Ca^{2+} az SR lumenből az elektrokémiai gradiensnek megfelelően a kontraktilis fehérjékkel azonos kompartmentbe áramlik. Ennek hatására az izom összehúzódik. Az izom relaxációját a szarkoplazmatikus tér kalcium szintjének csökkenése váltja ki. A Ca^{2+} transzportja döntően az SR lumenébe történik. Ezt a gradiens ellenében zajló iontranszportot a P-típusú ATPázok családjába tartozó Ca^{2+} -ATPáz valósítja meg.

Kísérleteink során néhány természetes fenolszármazék (*timol*, *transz-anetol*, *meta-ánizsaldehid*, *para-ánizsaldehid* és *cineol*) pumpaműködésre gyakorolt hatását vizsgáltuk.

Vizsgálatainkat nyúl vázizomból preparált könnyű SR vezikulákon végeztük ún. piruvát kináz „kapcsolt enzim assay” módszerrel, melynek során 334 nm-en követtük nyomon a NADH fogyást és ebből határoztuk meg Ca^{2+} -ATPáz aktivitását.

Eredményeink alapján megállapítható, hogy a timol és a transz-anetol a pumpa aktivitását koncentráció-függő módon gátolja. A transz-anetol kis mennyiségben aktiválta a Ca^{2+} -ATPáz, a gátló hatást 100 μM -os koncentráció felett váltotta ki. A dózishatás görbe Hill analízisével meghatározott disszociációs konstans értéke: $K_{d,t-anetol} = 168 \pm 10,4 \mu\text{M}$. A timol esetében a gátló hatás kisebb volt a transz-anetoléhoz képest: $K_{d,timol} = 224 \pm 10 \mu\text{M}$. A meghatározott Hill-koefficiensek a következők voltak: $n_{Hill,t-anetol} = 2,51 \pm 0,3$ illetve $n_{Hill,timol} = 1,95 \pm 0,14$. A meta-ánizsaldehid és a cineol 1mM feletti koncentrációtartományban gátolja a pumpaaktivitást. Ez a gátló hatás azonban a cineol esetében kisebb mértékű. Ezt bizonyítják a félgátló koncentrációk: $K_{d,m-ánizsaldehid} = 2247,5 \pm 140,8 \mu\text{M}$ és $K_{d,cineol} = 3337,52 \pm 218,2 \mu\text{M}$. Ezen anyagok Hill-koefficiensei: $n_{Hill,m-ánizsaldehid} = 2,46 \pm 0,42$ és $n_{Hill,cineol} = 2,22 \pm 0,34$. A p-ánizsaldehid nem befolyásolja a pumpa működését.

BLOK 1-5

A HupK kisegítő fehérje szerepének vizsgálata a *Thiocapsa roseopersicina* [Ni-Fe] hidrogenáz enzimeinek érése során

Nyilasi Andrea
IV. évf. biológus
SZTE, TTK Biotechnológiai Tanszék
témavezetők: Dr. Kovács Kornél, Dr. Rákhely Gábor

A *Thiocapsa roseopersicina* egy Gram-negatív, anaerob, fotoszintetizáló bíbor kénbaktérium, melyben a mai napig három különböző [Ni-Fe] hidrogenáz enzimet azonosítottak. Az aktív [Ni-Fe] hidrogenázok képződéséhez számos kisegítő gén terméke szükséges, ezen fehérjék felelnek pl. a fémek beépüléséért, az aktív centrum kialakításáért, a nagy alegység proteolitikus hasításáért, stb.. A *T. roseopersicina* esetében számos ilyen kisegítő gént sikerült az utóbbi időben azonosítani. Közülük a *hupK* gén, illetve termékének részletes vizsgálatát tűztem ki célul. A HupK fehérje több érdekes sajátossággal is bír, csak olyan organizmusokban van jelen, amelyek legalább egy membránkötött hidrogenáz enzimet tartalmaznak. A HupK fehérje nincs jelen a hidrogenázok mai legelterjedtebb érési modelljének alapjául is szolgáló *E. coli*-ban, így vizsgálata komoly újdonságokat hozhat a fototróf baktériumok hidrogenázainak érésének megértésében. Maga a *hupK* gén elhelyezkedése is érdekes, más organizmusoktól eltérően a gén nem a *hup* operon utolsó génjeként található, hanem a *hup* génektől teljesen függetlenül, *hyp*-típusú kisegítő gének környezetében. Munkám során a HupK fehérjét homológ gazdából tisztítom, és az érés során a HupK-val kölcsönható fehérjéket keresek, illetve a fehérje biokémiai sajátosságait kívánom meghatározni.

BIOK1-6

A von Willebrand faktor kölcsönhatásai a véralvadási-, és fibrinolitikus rendszer egyéb molekuláris komponenseivel

Salamon Anna

V.évf.biológus

ELTE TTK, SE Orvosi Biokémia Intézet, Hemosztázis Munkacsoport

témavezető: Dr. Komorowicz Erzsébet

Az utóbbi években megjelent eredmények alapján az artériás trombusok kialakulásában a fibrinogén mellett a von Willebrand faktor (vWf) is szerepet játszik, mint a trombocitákat összekötő adhéziós molekula. Célunk a vWf és a trombolitikus enzimek között lejátszódó, a trombusoldást befolyásoló kölcsönhatások vizsgálata.

vWf-ral borított mikroliter plate-ben európiummal jelölt plazminnal, ill. plazminogénnel végzett kötődési kísérletben a vWf disszociációs konstansát a fenti két ligandumra hasonlónak találtuk: $K_{d(P1n)}=1,59 \times 10^{-7}$ M; $K_{d(P1g)}=1,03 \times 10^{-7}$ M. Plazmint mesterséges peptidszubsztrátjával (Spectrozyme-PL, SpPL) vWf (1U/ml=10µg/ml) jelenlétében, ill. anélkül reagáltatva, a keletkező színes reakciótermék optikai denzitásának időbeni változását spektrofotométerrel követtük. A plazmin K_M és V_{max} értéke SpPL-re mindkét esetben azonos; az eredmények ismét arra utalnak, hogy a plazmin aktív centruma és a vWf között a fiziológiához közeli koncentrációkban nincs kölcsönhatás.

A vWf-nak a plazmin és természetes szubsztrátjai között lejátszódó reakciókra gyakorolt hatásait vizsgálva a plazmin fibrinogén- emésztését SDS-poliakrilamid gélelektroforézissel, ill. a degradált fibrinogén trombinnal való alvaszthatóságán keresztül in vitro véralvadási rendszerben, míg a vWf plazmin általi degradációját Western blot technikával követtük. In vitro rendszerünkben mind a fibrinogéndegradáció, mind a fibrinpolimerizáció tekintetében a vWf gátló hatását tapasztaltuk. Fibrinogént (0,5g/l) vWf (1U/ml) jelenlétében, ill. anélkül plazminnal (12,5nM) emésztve gélelektroforézissel is megállapítható, hogy a plazmin fibrinogénbontó képessége vWf jelenlétében jóval mérsékeltebb. Hasonló inkubációs körülmények között a vWf bomlása nem figyelhető meg, azonban 25nM-os plazminkoncentráció felett már igen. A továbbiakban vizsgálatainkat más trombolitikus enzimek (elasztáz, katepszin-G) vWf-ral való kapcsolatára is szeretnénk kiterjeszteni.

BIOK1-7

A humán 3-foszfoglicerát kináz (PGK) enzim kifejezése, irányított mutagenézise és enzimológiai vizsgálata

Szabó Judit

V. évf. biológus

ELTE TTK Enzimológiai Intézet

témavezetők: Kazinczyné Dr. Vas Mária, Pollnerné Dr. Flachner Beáta

A PGK monomer szerkezetű, két doménnel rendelkező enzim. A katalízis során bekövetkező doménzáródás fő molekulaszervezeti elemeiről röntgenszerkezeti adatok már képet adtak. Nem ismert azonban, hogy ennek során a katalitikus oldalláncok hogyan kerülnek a reakció lefolyásához optimális térhelyzetbe. A nyitott szerkezetben a C-terminális domén Lys215-ös oldallánca az aktív centrumtól távol helyezkedik el, mégis feltételezhető, hogy a katalízis során az átadódó foszfo-csoportot stabilizálja. A szerkezeti adatok alapján a Lys215 a nukleotid szubsztrát (MgATP) foszfátláncának alternatív kötőhelyén található, melynek szintén még ismeretlen a szerepe.

Célul tűztem ki a Lys215 szerepének vizsgálatát. A Lys215 oldalláncot irányított mutagenézissel kicseréltem Ala illetve Arg oldalláncokra. Mindkét mutánst és a vad típusú humán PGK-t *E.coli* sejtekben fejeztem ki és homogenitásig tisztítottam. A helyes térszerkezet kialakulását biofizikai módszerekkel (CD spektroszkópia, DSC mikrokalorimetria) ellenőriztem.

Mindhárom fehérjével enzimkinetikai vizsgálatokat végeztem. A vad típusú PGK-hoz képest a két mutáns csupán kb. 0,5 %-os aktivitást mutatott a 3-PG és MgATP szubsztrátokat alkalmazva, ami igazolja a Lys215 feltételezett katalitikus szerepét. Ellentétben a szubsztrátfelesleg- és anionaktiválást mutató vad típusú enzimmel, mindkét mutáns elveszti ezt a tulajdonságát és reakciója egyszerű Michaelis-Menten kinetikát követ. A szubsztrátokra vonatkozó K_m értékek mindkét mutáns esetén jelentősen nőnek, ami az enzim-szubsztrát kölcsönhatás gyengülését mutatja. A MgATP-vel való kölcsönhatás azonban sokkal nagyobb mértékben gyengül, mint a 3-PG-vel való. Az eredmények a Lys215 oldallánc alapvető szerepét támasztják alá mind a MgATP-ről átadódó γ -foszfát stabilizálásában az enzimműködés során, mind pedig az enzimműködés szabályozásában. Mindkét folyamatban az oldallánc pozitív töltésén kívül annak mérete (térfogatja) is fontos szereppel bír.

BIOKI-8

Humán tripszin 4 katalitikus mechanizmusának vizsgálata proton inventory módszerrel oligopeptid szubsztrátokon

Szenes Áron
IV. évf. biológus
ELTE TTK Biokémiai Tanszék
témavezetők: Dr. Antal József, Dr. Gráf László

Az emberi agyban lokalizálódó 4 tripszin izoforma (t4) egyik legszembeszökőbb tulajdonsága, hogy a fehérje inhibitorok csak kismértékben gátolják. A röntgenszerkezet meghatározása, illetve mutagenézis kísérletek feltárták ennek okát: az enzim 193. pozíciójában bekövetkezett Gly→Arg mutációval bevitt guanidino oldallánc az S2' (másodlagos) hatóhelyet érintő enzim-inhibitor, enzim-szubsztrát kölcsönhatásokat sztérikusan gátolja. Kromogén szubsztrátokon végzett mérések alapján a katalitikus gépezet nem szenvedett nagyobb változást, azonban a peptid és fehérje szubsztrátokon kapott eredmények ezzel némiképp ellentmondásban vannak.

Azért, hogy betekintést nyerjünk az enzimműködésbe, proton inventory (PI) módszerrel meghatároztuk, hogy milyen katalitikus mechanizmus modell érvényes a t4-es és a referenciaként választott humán 1 esetén. A PI módszerrel különböző deutérium koncentrációk mellett az enzimaktivásban bekövetkezett változásokra következtetünk.

Munkánkban elsőként az optimális szubsztrátot terveztük meg, majd kompetitív rendszerben kiválasztottuk a versengő szubsztrátok közül a mérésre legalkalmasabbakat.

A szubsztrát fogyást az idő függvényében fordított fázisú folyadékkromatográfiával követtük. Ebből a GRAFIT kinetikai illesztő program segítségével megkaptuk az enzimek k_{cat}/K_M kinetikai paramétereit, majd azokat a deutérium/hidrogén arány függvényében ábrázolva ugyancsak a GRAFIT programmal meghatároztuk a katalitikus mechanizmusra jellemző modellt.

Eredményeink azt mutatták, hogy a Gly193Arg mutáció a t4-ben nem okozott változást az enzim katalitikus gépezetében, a szerin proteináz katalizált hidrolízisben fontos töltés relé rendszer érintetlen maradt. Az enzimek között peptid/fehérje szubsztrátokon tapasztalható különbségeket valószínűleg a másodlagos hatóhelyek átrendeződése, a produktív szubsztrátkötődés gyengülése okozza.

BIOKI-9

Enzimreakciók dinamikus szimulációja

Veizer Andrea
V. évf. agrár-mémöktanár
KE ÁTK Alkalmazott Matematika és Fizika Tanszék
témavezetők: Dr. Bánkúti Gyöngyi, Dr. Csukás Béla

Dolgozatomban egy metabolikus reakció - melynek során élesztőgombákban acetaldehidből ADH enzim segítségével etanol keletkezik - számítógépes szimulációs programmal történő modellezésével foglalkozom. A célom bemutatni, hogy a genetikai algoritmussal együttműködő számítógépes szimuláció alkalmas egyszerű (és bonyolultabb) metabolikus folyamatok modellezésére, a folyamat valódi fizikai paramétereinek identifikálására, valamint a mélyebb megértést is elősegítő következtetések levonására. Ez a módszer lehetővé teszi az összes elemi reakció számítógépes modellezését, és a jelenlévő komplexek figyelembe vételét.

Eredeti mérési adatok hiányában az irodalomból származó, nem publikált mérési adatok alapján épített matematikai modellel helyettesítettem a mérést. Genetikai algoritmus segítségével meghatároztam az így értelmezett „mért” adatoknak megfelelő részletes dinamikus modell kinetikai és egyensúlyi állandóit. Így sikerült egy egyszerű reakció esetén a teljes folyamatot modellezni, és az elemi reakciók minden paraméterét meghatározni.

Paraméter érzékenység-vizsgálatot is végeztem, melynek során egyesével változtattam a primer reakciók kinetikai és egyensúlyi állandóit $\pm 10\%$ -kal, és ± 1 nagyságrenddel, illetve $\pm 50\%$ -kal, valamint a kiindulási enzimkoncentrációt ± 1 nagyságrenddel.

Ennek eredményeként megállapítható, hogy a fentiek $\pm 10\%$ -os változtatása nem gyakorol számottevő hatást a fogyó, illetve képződő metabolitok koncentrációira. Ennél nagyobb (egy nagyságrendű) változtatásuk esetén az eredeti értéknél szélsőértékük van, azaz a képződő anyagnak max., a fogyó anyagnak pedig min. koncentrációja van. Egyes paraméterek növelésének hatására a koncentrációk szélsőértéke állandó maradt. Ez az állítás feltehetően általánosan is igaz az egyensúlyi reakciókból felépülő körökben. Mindez az egyensúlyi körfolyamatban kialakuló természetes visszacsatolások működésével, valamint a körfolyamatban résztvevő enzimentartalmú komponensek állandó koncentrációösszegével magyarázható. Az enzim mennyiségének változása a biológiai tapasztalattal megegyezően nagyon erős hatást gyakorol.

A részletes modellben explicit szerepel az enzim koncentráció is, ami lehetővé teszi a metabolikus modell összekapcsolását enzimmépződéssel, és bomlással, vagyis a genetikai információ dekódolásával. Ugyanakkor lehetőség nyílik a reakció bővítésére más folyamatokkal, azaz az új kölcsönhatások figyelembe vételére is. Erre - az enzimkoncentráció hiányában - a szokásos metabolikus modellek nem képesek.

A D-Trp tartalmú contryphanok szerkezetvizsgálata molekuladinamikai módszerekkel

Biczó György, Kerényi Ádám

IV. évf. biológus; V. évf. biológia - II. évf. informatika

SZTE TTK Biotechnológiai Tanszék

témavezető: Leitgeb Balázs, Dr. Rákhely Gábor

Az indopacifikus elterjedésű, tengeri ragadozó *Conus* csiga fajok mérgeiben szerkezetüket tekintve érdekes, farmakológiailag aktív peptidok (conopeptidok) találhatóak. Ezek közé tartozik a contryphan peptidcsalád is, amelynek négy tagját vizsgáltuk. A contryphanok jellegzetes, poszttranszlációs kialakuló szerkezeti sajátosságokkal rendelkeznek, úgymint prolin hidroxiláció, C-terminális amidáció, leucin vagy triptofán izomerizáció, esetleg triptofán bromináció, továbbá gyűrűzáródás diszulfid hidon keresztül. A contryphanok biológiailag aktív molekulák, egérben a jellegzetes „stiff-tail” szindrómát okozzák intra-cerebroventrikuláris injekció hatására.

A contryphan-P, -R, -Sm és -Tx molekulák (konszenzus szekvencia: GCOWXPXC-NH₂, ahol O = 4-transz-hidroxi-prolin, W = D-Trp és X = változó) konformáció-analízisét végeztük el szimulált anellációval. A molekulák *cisz-transz* (*major*) és *transz-transz* (*minor*) izomereit (a Cys²-Hyp³, valamint az Xxx⁵-Pro⁶ peptidkötéseknek megfelelően) külön-külön modelleztük. A szimulált anellációból kapott konformerek esetén az alábbi vizsgálatokat végeztük el. A Cys², Hyp³, D-Trp⁴, Asp⁵/Glx⁵, Pro⁶, Trp⁷/Tyr⁷ valamint Cys⁸ aminosavak Φ és Ψ torziós szögeinek felhasználásával Ramchandran ábrákat készítettünk, és meghatároztuk a preferált konformációs tartományokat. Megvizsgáltuk a *g*(+), *g*(-) és *transz* rotamer populációk százalékos megoszlását a χ_1 torziós szög esetén a Cys², D-Trp⁴, Asp⁵/Glx⁵, Trp⁷/Tyr⁷ és Cys⁸ oldalláncokra nézve. Az N-terminális NH₃⁺ - Xxx⁵-CO^δ kölcsönhatás tisztázása céljából meghatároztuk az N-terminális N atom és az ötös pozícióban lévő aminosav-oldallánc O atomja közötti távolságtérkéket. Továbbá megvizsgáltuk a másodlagos szerkezeti elemek (többféle β - és γ -turn) előfordulását, valamint a szerkezet-stabilizálásban és a másodlagos szerkezetek kialakításában szerepet játszó H-kötéseket. A contryphan-R *major* és *minor* formája esetén explicit vizes molekuladinamikai számításokat is végeztünk, és a kapott szerkezetekben megvizsgáltuk a kialakuló másodlagos szerkezeti elemeket, valamint az N-terminális NH₃⁺ - Xxx⁵-CO^δ kölcsönhatás jelenlétét.

Természetes fenolszármazékok hatása a szarkoplazmatikus retikulum kalciumcsatorna működésére

Dobrosi Nóra, Nagy Georgina

V. évf. molekuláris biológus

DE TTK, DE OEC Élettani Intézet

témavezető: Dr. Szegedi Csaba

Az izomműködés során zajló iontranszport megfelelő módja alapvető fontosságú az izom fiziológiás működése szempontjából. Az akciós potenciál során bekövetkező membránpotenciál-változás a DHP- receptorok (L-típusú kalciumcsatorna) - mint feszültségérzékelők- konformáció változását váltja ki, s ez a konformáció változás idézi elő a rianodin érzékeny kalciumcsatornák megnyílását. Az így kialakuló iontranszport egyes lépéseit különféle endogén és exogén modulátorok (fehérjék, ionok, toxinok, alkaloidok) jelentősen befolyásolhatják.

Munkám célja az SR- kalcium- csatorna működésének, a kalcium felszabadulásának vizsgálata. Kísérleteimben különböző, de szerkezetileg hasonló növényi alkaloidok hatását vizsgáltam. A felhasznált anyagok- timol, karvakrol, para- és meta- ánizsaldehid, transz-anetol, cineol, - a cineol kivételével, mely a monoterpének közé tartozik - valamennyien természetes fenolszármazékok.

Méréseimhez sertés vázizomból izolált nehéz SR (HSR) vezikulákat használtam, mely tartalmazza mind a kalcium csatornát, mind a kalcium pumpát. A HSR vezikulákat a kísérletek kezdetekor aktívan töltöttem fel kalciummal, magnézium és ATP jelenlétében. Ezt követően vizsgáltam az egyes növényi alkaloidok hatását a kalcium- felszabadulásra, fotometriás módszerrel kalcium-kötő metallokróm festék (Antipirilazo III) segítségével. A fényintenzitás változását 710 nm-es hullámhosszon követtem nyomon SPEX Fluoromax spektrofotométerrel, és meghatároztam a felszabadult kalcium mennyiségét.

Mindenegy mérést 500 μ M-os koncentrációban végeztem. Eredményeim alapján a vizsgált illóolajok közül a para- és a meta- ánizsaldehid, a transz-anetol, illetve a cineol esetében nem tapasztaltam kalcium felszabadulást, míg a timol és a karvakrol hatására jelentős mennyiségű kalcium szabadult fel a HSR vezikulákból. A timol hatására mintegy 136 μ M kalcium szabadult fel, míg a karvakrol esetében még ennél is nagyobb mennyiségű kalcium felszabadulását tapasztaltam (224 μ M). Triciált rianodin segítségével megvizsgáltam, hogy a hatásos szerek közül a timol hogyan befolyásolja a HSR vezikulák rianodin kötését. A Ca²⁺- csatornához rianodin akkor kapcsolódik, ha a csatorna nyitva van, tehát a rianodin kötődésének mértékével jellemezhető a csatorna aktív állapota. A maximális kötőhelyek száma kontroll körülmények között: B_{max} = 4,02 \pm 0,38 pmol/mg protein; a disszociációs konstans: K_d = 14,60 \pm 2,22 nM; n_{Hill} = 1,62 \pm 0,2. A maximálisan megkötött triciummal jelölt rianodin mennyisége 300 μ M timol jelenlétében nőtt, B_{max} = 7,37 \pm 0,49 pmol/mg protein, valamint nőtt a csatorna rianodin affinitása is: K_d = 11,55 \pm 1,40 nM. Ezt követően meghatároztam a timol dózis-hatás görbéjét 6nM rianodin jelenlétében. Az adatok Hill - analízissel kapott eredményei: K_d = 81,33 \pm 32 μ M; n_{Hill} = 1,12 \pm 0,95.

Timol jelenlétében tehát mind a maximálisan kötött rianodin mennyisége, mind a csatorna rianodin affinitása a nőtt, azaz a timol aktiválja a csatornát.

BIOK2-3

Fehérjék 2D gélelektroforézis vizsgálata és tömegspektrometriai azonosítása patkány vérszérumból taurokólsavas kezelést követően

Földi István

V. évfolyam, biológus

SZTE TTK, SZTE ÁOK Orvosi Vegytani Intézet

témavezető: Dr. Penke Botond, Dr. Huszár Emőke

Szöveti sérülések, trauma és fertőzés hatására számos karakterisztikus változás történik a szervezetben (akut fázis válasz), elsősorban a fehérjék szintézisében. Egyes fehérjék koncentrációja megnő (pozitív akut fázis fehérjék), vannak azonban olyanok is, melyek mennyisége csökken (negatív akut fázis fehérjék). A modern proteomikai módszerek lehetőséget biztosítanak ezen változások minőségi-mennyiségi leírására.

Célunk egy modell létrehozása olyan fehérjék azonosításának céljából, melyek új támadáspontokat jelenthetnek korszerű gyulladásgátló szerek kifejlesztéséhez.

Taurokólsavval kezelt patkányból származó hasnyálmirigy-gyulladásos szérumminták proteomikai módszerekkel történő vizsgálatát végeztük. A pozitív és negatív szérumminták 2D-gélelektroforézissal való összehasonlítása során a kapott fehérjemintázatok hasonlóak voltak, azonban különbségek is mutatkoztak. A pozitív kontrollból származó gélen a jól elkülöníthető pontok többsége kivágásra került, és a mintákat enzimes emésztés után tömegspektrometriai analízisnek vetettük alá. 16 fehérjét sikerült azonosítani, melyek közül több is, a nemzetközi irodalomban már leírt akut fázis fehérje. Kizárólag a pozitív szérumban jelent meg egy specifikus fehérje: orozomukoid 1 (alfa-1-savas glikoprotein). Ez a fehérje egyértelműen igazolja az akut fázis létrejöttét, mert patkány szervezetben egyike a legfontosabb akut fázis fehérjéknek. Ezen eredmények megerősítéséhez, esetleg további fehérjék azonosításához a módszer finomításait, illetve több minta feldolgozását tervezzük.

BIOK2-4

Az izopropilmalát-dehidrogenáz (IPMDH) alegységeinek szerepe a térszerkezet kialakulásában

Gráczer Éva

V. évf. biológus

ELTE TTK, MTA SZBK Enzimológiai Intézet

témavezető: Kazinczyné Dr. Vas Mária

A fehérje-térszerkezet kialakulása a biológiai aktivitás előfeltétele. A polipeptidlánc feltekeredési folyamatát meghatározó tényezők azonban még nagyrészt ismeretlenek. Oligomer szerkezetű fehérjék alegységeinek szerepéről az aktív térszerkezet kialakításában alig van információnk. Ezért célul tűztem ki a dimer izopropilmalát-dehidrogenáz (IPMDH) renaturációs és denaturációs folyamatának tanulmányozását. Az IPMDH a leucin bioszintézis egyik alapvető enzime: NAD^+ és kétértékű kationok (Mn^{2+} vagy Mg^{2+}) jelenlétében a 3-izopropil-maleinsav oxidatív dekarboxilázásával α -keto-izokapronsavat állít elő. Az aktív centrumok kialakításában mindkét izológ módon összekapcsolódó alegység részt vesz. A GuHCl -ban denaturált IPMDH renaturációját az enzimaktivitás méréséhez használt reakcióelegybe történő hígítással indítottam el és az enzimaktivitás visszatérését folyamatosan követtem. A reaktiválódás késleltetéssel induló összetett folyamat, ami inaktív renaturációs köztitermek létre enged következtetni. Mivel az időgörbe alakja nem változik a fehérje-koncentrációval, feltételezhető, hogy az inaktív intermedier már dimer szerkezetű, azaz a polipeptidláncok asszociációja már az enzimaktivitás megjelenéséhez vezető elsőrendű izomerizációs lépés(ek)et megelőzően bekövetkezik. Az inaktív intermedier további vizsgálatára a fehérje fluoreszcencia változását követtem a renaturáció során. Ez szintén bifázikus folyamat: egy nagyon gyors kezdeti lépést lassú izomerizáció követ. A gyors lépés az inaktív intermedier keletkezésénél is gyorsabb, tehát van még egy inaktív, fehérje fluoreszcenciával (azaz már bizonyos szerkezettel) is rendelkező renaturációs köztitermek. Az intermedierről sikerült azt is megállapítanom, hogy spektruma inkább hasonlít a natív, mint a denaturált IPMDH-éhoz. A denaturáció időgörbéje szintén bifázikus, de a renaturáció tükörképe. A fenti adatok szerint az IPMDH renaturációjának mechanizmusa: $\text{D} + \text{D} \rightarrow \text{I}'_2 \rightarrow \text{I}_2 \rightarrow \text{N}_2$ (ahol D denaturált monomer, I'_2 és I_2 inaktív dimer intermedierek, N_2 natív dimer). Tehát az IPMDH natív térszerkezete kialakulásának előfeltétele az alegységek közötti kapcsolat, azaz a polipeptidláncok asszociációja a renaturáció kezdeti fázisában.

BLOK2-5

Egy különleges nem-konvencionális miozin könnyű lánc vizsgálata

Hódi Zsuzsa
2004, biológus
ELTE TTK Biokémiai Tanszék
témavezető: Dr. Nyitray László

Az V-ös osztályba tartozó nem-konvencionális miozin az eukarióták egyik legfontosabb intracelluláris szállító motorfehérjéje. A humán genomban három miozin V nehéz lánc gén található, amelyek közül a MYO5A általánosan kifejeződik (neuronokban különösen nagy mennyiségben). A miozin Va egy érdekes alegysége, az eredetileg a dinein motorfehérje alegységeként leírt 8 kDa-os könnyű lánc (DLC). A DLC egy igen konzervatív, de minden bizonnyal sokoldalú szerepet betöltő fehérje. Legfőbb feladata a kargókötés és/vagy szabályozás lehet, de „átkapcsolóként” is működhet a kétféle citoskeletális mozgatórendszer között, mivel aktin- és mikrotubulus-alapú motorokhoz is kötődik. Tucatnyi kötőpartnerét ismerjük, pl. virális, proapoptózis és posztzinaptikus fehérjék, nNOS. Emberben három DLC paralógot találtak, a DLC1 *in vivo* valószínűleg csak a dineinhez, míg a DLC2 a miozin V-höz kötődik; a DLC3 szerepe ismeretlen. A miozin V DLC kötőhelyéről eddig csak azt tudtuk, hogy a szegmentált coiled-coil szerkezetű rúd régióban található, amely szekvencia nem tartalmazza az interakciós partnerek többségére jellemző konszenzus motívumot.

Munkánk során a miozin Va rúd különböző méretű fragmentumait és a DLC2-t E. coli sejtekben expresszáltuk, majd His- vagy GST affinitás-címke segítségével izoláltuk. A komplex kialakulását analitikai gélszűrőssel, affinitás kromatográfiával és limitált proteolízissel, a komplex és a két komponense szerkezetét fluoreszcens, CD és NMR spektroszkópiával vizsgáltuk.

Eredményeink alapján a DLC homodimerként a mediális és disztális coiled-coil közötti kb. 80 aminosavból álló nem coiled-coil szerkezetű régió belül lokalizált ~15 aminosav hosszúságú peptidszakaszhoz kötődik, amennyiben jelen van benne az alternatívan kifejeződő B exon. A DLC kötődése a teljes nem coiled-coil régiót stabilizálja, aminek alapján elneveztük DLC kötő doménnek (DBD). Valószínűsíthető, hogy egy DLC dimer két DBD-hez köt. A kötés topológiája pontosan még nem ismert.

BLOK2-6

Oxidatív stressz és alapvető életfunkciók összefüggése koraszülötteknél

Hracskó Zsuzsanna
V.évf. biológus
SZTE TTK Genetikai és Molekuláris Biológiai Tanszék
témavezető: Szöllősiné Dr. Varga Ilona

Magyarországon az újszülöttek 10-11%-a koraszülött. Az ilyen újszülöttek életfunkciói elmaradnak az időre születettekétől (éretlen tüdő, légzési-, keringési rendellenességek, csökkent védekező mechanizmusok). Közvetlen születés után az élettani paraméterek jellemzésére az Apgar-érték és a pH szolgál. Az újszülött állapotára jellemző adat az is, hogy az anyát a terhesség alatt kezelték-e tüdőerlőkkel. A terhességek 5-6%-ban az újszülött tömege nem éri el az adott gesztációs időhöz hozzárendelhető normális érték 90%-át. Ebben az esetben intrauterin növekedési retardációról (IUGR) beszélünk.

Munkánk során azt kívántuk meghatározni, hogy van-e összefüggés a születéskor mért Apgar értékek, pH, tüdőerlők alkalmazása és az oxidatív stressz illetve antioxidáns védelem állapotára jellemző megfelelő paraméterek között. Vizsgáltuk továbbá az oxidatív stressz szerepét az IUGR kórképben.

A SZTE Szülészeti- és Nőgyógyászati Klinikán született csecsemőktől származó köldökvért vizsgáltuk. Az egyes kategóriák egymással, illetve a kontrollal történő összehasonlításával kerestük a választ a kérdésekre.

Az egyes csoportokban meghatároztuk a lipid peroxidáció mértékét a malondialdehid koncentráció alapján plazmában és vörösvértestben és az IUGR esetében eritrocita ghoston is. Megmértük továbbá a redukált glutation antioxidáns molekula szintjét, és a kataláz, szuperoxid-dizmutáz, glutation-peroxidáz enzimek aktivitását. Végül meghatároztuk a plazmák össz antioxidáns kapacitását.

Eredményeinkből azt a következtetést vontuk le, hogy koraszülötteknél és IUGR esetén a létfontosságú élettani funkciók rendellenessége összefügg az antioxidáns paraméterek változásával. Ennek alapján az egyes rendellenességek és szignifikáns oxidatív stressz kapcsolatát valószínűsíthetjük.

Az indolicidin és három szerkezeti analógjának konformáció-analízise

Kerényi Ádám
V. évf. biológia - II. évf. informatika
SZTE TTK Biotechnológiai Tanszék
témavezetők: Leitgeb Balázs, Dr. Rákhely Gábor

Az indolicidin egy 13 aminosavból álló antimikrobiális peptid, melyet szarvasmarha neutrofil granulocitáiból izoláltak. A peptid 5 triptofánt, 3 prolint, valamint bázikus aminosavakat (arginin, lizin) is tartalmaz. Az indolicidin biológiai hatását a sejtmembránon fejtí ki, ugyanis a membránba épülve pórusokat képez, ezáltal szétroncsolja annak szerkezetét. Hatása rendkívül széles spektrumban mutatkozik meg: Gram(+) és Gram(-) baktériumokon, valamint gombákon is kifejti hatását, továbbá hemolitikus és antivirális aktivitását is igazolták.

Az indolicidin mellett további három analógjának a szerkezetét vizsgáltuk meg: ezek az *enantio*-indolicidin (D-aminosav tartalmú peptid), a *retro*-indolicidin (fordított szekvenciájú peptid), valamint a *retroenantio*-indolicidin (fordított szekvenciájú és D-aminosav tartalmú peptid). A konformáció-analízist szimulált anellációval végeztük el, amelyből kapott konformerek esetén az aminosavak Φ és Ψ torziós szögeit, valamint a C_{α} -k által definiált pszeudo-torziós szögeket használtuk fel a peptid konformációs tereinek jellemzésére, illetve a preferált régiók meghatározására. Az Ile, Leu, Trp, Lys és Arg aminosavak oldalláncai esetén megvizsgáltuk a *g*(+), *g*(-) és *transz* rotamer populációk nagyságát. A különböző szekvencia szakaszokban meghatároztuk az előforduló másodlagos szerkezeti elemeket, illetve az egyéb határozott szerkezettel jellemezhető struktúrákat (β - és γ -turn-ök, poli-prolin II hélix). A Φ és Ψ torziós szögek eloszlásai alapján megfigyelt legnagyobb konformer populációk szögintervallumainak felhasználásával meghatároztuk a poli-prolin II hélixhez nagyon hasonló szerkezeteket. Továbbá feltérképeztük a különböző intramolekuláris kölcsönhatásokat (H-kötések, aromás-aromás kölcsönhatások, prolin-aromás kölcsönhatások), amelyek szerepet játszhatnak ezen peptid konformációs állapotainak stabilizálásában.

Stabilitás- és szerkezetvizsgálatok papainnal szerves oldószeres közegben

Szabó András
V. évf. biológus
SZTE TTK Biokémiai Tanszék
témavezető: Dr. Lehoczki Endréné

Napjainkban az enzimeket széles körben alkalmazzák az ipar számos területén, a szerves kémiai szintéziseknél és a biokémiai analitikában. Az elmúlt évtizedben az enzimek nem-hagyományos közegű alkalmazására helyeződött a hangsúly, mivel azokkal szerves oldószeres számos szintetikus reakciót lehet megvalósítani (pl. hidroláz enzimekkel peptid- és észterszintézist stb.). A szerves oldószeres enzimek szerkezetére gyakorolt hatása nem tisztázott. Az enzimek stabilitása, stabilizálása jelenti az egyik legbonyolultabb problémát a fehérjekémiában, mivel azt sok tényező befolyásolhatja. Vizes oldatban a fehérjéket hidrátburok veszi körül, szerves oldószer jelenlétében azonban az oldószer-molekulák helyettesíthetik a vízmolekulákat a hidrátburokban és a fehérje szerkezetében.

A különböző kémiai sajátságú oldószeres eltérő módon és mértékben hatnak a fehérjék, enzimek szerkezetére, és ebből adódóan azok stabilitására. A kísérletek során kinetikai mérésekkel megvizsgáltuk néhány, szerves szintézisekben gyakran használt, eltérő kémiai sajátságokkal rendelkező oldószernek (etanol, dimetil-szulfoxid, tetrahydrofuran) a papain aktivitására gyakorolt hatását 0–90 tf% oldószer-tartalom mellett. Megállapítottuk, hogy az etanol csak kismértékben hatott az enzim stabilitására, a dimetil-szulfoxid és a tetrahydrofuran azonban jelentősen módosította azt. A szerves oldószeres hatására bekövetkező szerkezetváltozásokat a fehérje saját és fehérje-festék komplex fluoreszcenciájának vizsgálatával mutattuk ki. Kísérleteinkben a fluoreszkamin (4-fenilspiro[*furán*-2(3H),1'-*ftalán*]-3,3'-*dion*) fluorofor festéket használtuk, amely elsősorban a fehérjék primer aminjaihoz kötődik. Méréseink során a fluoreszcencia-intenzitásból, a görbe alakjából, a spektrum eltolódásából és a fehérje-festék kötőszámából következtettünk a papain konformáció-változására. A harmadlagos szerkezet változását közeli UV CD-spektroszkópiai mérésekkel tanulmányoztuk.

Kísérleti eredményeink azt mutatták, hogy szerkezetváltozás mindegyik szerves oldószer jelenlétében már kis oldószer-koncentrációnál bekövetkezett, de ezek a változások nem mindig, vagy csak kismértékben érintették az aktív centrumot, és jártak az enzimaktivitás csökkenésével.

ETOL-1

Jobb tanulók-e az alárendeltek? Rangsorfüggő szociális tanulás kutyáknál

Bánhegyi Petra
V. évf. zoológus
SZTE ÁOTK, ELTE TTK Etológia Tanszék
témavezető: Dr. Pongrácz Péter

A kutyák hatékonyan képesek tanulni egy embertől, ha az demonstrálja nekik egy V-alakú kerítés megkerülését. Azt is kimutatták, hogy ha a kutyákat tartási körülményeik szerint három csoportba sorolják (egyke, társas-alárendelt, társas-domináns), akkor a fenti kerítéses szituációban egy kutya demonstrátortól az alárendeltek tanulnak a legjobban.

Jelen kutatás során a kérdésünk az volt, hogy a kutyák rangsorban elfoglalt helye befolyásolja-e azt, hogy milyen hatékonyan tanulnak embertől. A demonstráció során a kísérletvezető bevitte a céltárgyat a V-alakú kerítés sarkába, majd ugyanazon az útvonalon ki is jött, miközben a kutya a kerítésen kívülről végig figyelt. Kutyánként három próbát végeztünk, mindegyik előtt demonstrációval. Fő változóként a kutya elengedése, és a céltárgy megtalálása között eltelt időt mértük.

Eredményeink szerint az egyke és a domináns kutyák már két demonstráció hatására jelentősen gyorsabbak lettek, míg az alárendeltek csak a harmadikat követően. A már említett korábbi vizsgálattal összehasonlítva, látható, hogy míg a dominánsak csak embertől tanultak, addig az alárendeltek mindkét demonstrátortól képesek voltak erre, habár az embertől kevésbé hatékonyan tanultak, mint a kutyától.

A kerítéses kísérletek során a kutyák nem követik pontosan a demonstráció irányát, csak magát a kerülést lesik el. Ennek kapcsán merült fel még folyamatban lévő vizsgálatunk kérdése: ha többféle módszer is adódik a céltárgy megszerzésére, a kutyák a demonstrátortól látottat vagy inkább a saját, egyéni megoldásukat alkalmazzák?

Eszközünk egy faállványhoz a közepénél fogva odacsavarozott, alaphelyzetben vízszintes, műanyag cső, melynek végeiről madzagok lógnak, a közepére pedig labdát helyezünk. A labda megszerzésének két módszere: csőbillentés madzaghúzással, vagy a cső végének lenyomásával. Eredményeinket itt is megpróbáljuk a kutyák rangsorban elfoglalt helyének függvényében elemezni.

ETOL-1

Méhen belüli pozíció hatása a morfológiára és a viselkedésre házinyulaknál

Bánszegi Oxána
V. évf. biológus
ELTE TTK, Etológia Tanszék
témavezető: Dr. Bilkó Ágnes

Egereknél és mongol futóegerekénél már ismert, hogy a méhben fejlődő nőstény magzatok ivari differenciációját, morfológiáját és felnőttkori viselkedését is befolyásolja az, hogy adott időszakban mennyi tesztoszteron éri őket. A többet ellő emlős esetében ezek a hatások nemcsak az anyától, hanem a szomszédos embrióktól származhatnak azok nemétől függően. Az anyától tápanyagot és egyéb anyagot például hormonokat kapnak, s ugyanígy az embriók is leadnak különböző anyagokat, melyek bejutnak a másik embrióba a magzatburkon keresztül. A mi vizsgálatunk célja, hogy kiderítsük a nőstény kisnyulak méhen belüli pozíciójának hatását morfológiájukra és a későbbi reprodukciós viselkedésükre. Hasonlóan a rágcsárak többségéhez, a nyúlak is kétszarvú méhe van. Ezért vizsgálatunkban 12 nőstény nyúl egyik oldali méhszarvát műtéti úton elköttettük, így lehetővé vált, hogy az anyák születendő utódait hím-szomszédok alapján 4 csoportba osszuk: hím, 0M, 2M (M=male) nőstény. Szignifikáns különbséget kaptunk a hímek és nőstények születési gátméretben és a nőstények esetében a 0M-1M és 0M-2M csoportok között. Az alomok ivararánya, vagyis az alomban található összes hím százalékos aránya és a nőstény kisnyulak születési gátmérete közt pozitív korrelációt kaptunk. A felnőttkori reprodukciós viselkedést a nőstények esetében azok 6 hónapos korában spontán álljelölési aktivitásuk mérésével vizsgáltuk. Eredményeink azt mutatják, hogy a 2M nőstények spontán módon szignifikánsan többet jelöltek, mint a 0M-esek, mivel ez a tulajdonság jellemző a hímekre.

ETOL 3

Glukokortikoid hormonok gyors magatartási hatásai

Barsy Boglárka
V. évf. biológus
ELTE TTK, MTA KOKI Magatartás Neurobiológiai Osztály
témavezető: Dr. Haller József

A glukokortikoidok a mellévesekéregben termelődnek válaszul különböző fizikai és szociális kihívásokra. Kutatócsoportunk korábban kimutatta, hogy a glukokortikoidok laboratóriumi patkányok agresszióját néhány percen belül, nem genomiális mechanizmus útján fokozzák akut szociális kihívás esetén. Jelen vizsgálatunk során arra a kérdésre kerestük a választ, hogy ez a gyors hatás specifikus-e az agresszióra, illetve a glukokortikoidok képesek-e különböző magatartási kihívások esetén más viselkedésformákat aktiválni. Kísérleteinkben megvizsgáltuk a glukokortikoidok akut hatásait nem szociális jellegű kihívás esetén, illetve a territoriális kísérletnél összetettebb, a patkányok természetes életkörülményeit jobban közelítő komplex szociális környezetben. Az akut, „nem szociális” kihívásra adott válaszreakciót megemelt keresztpalló-teszten (elevated plus-maze) vizsgáltuk, mely az állatok ismeretlen helyen mutatott explorációs és mozgásaktivitási válaszreakcióját méri. Eredményeink szerint a kortikoszteron akut módon fokozta a patkányok megemelt keresztpallón mutatott ún. kockázatfelmérő viselkedését, egyéb magatartási változókra nem hatott. A glukokortikoidok komplex szociális környezetben kifejtett gyors hatásait egy új, általunk kidolgozott tesztben vizsgáltuk, mely során „szociális ketrecekben” hármassával tartott hím állatok viselkedését figyeltük 15 napon keresztül rendszeresen, és az egyes viselkedési elemek előfordulásából következtettünk a rangsor kialakulására. Ezt követően a glukokortikoid injekció agresszióra, illetve a korábban kialakult rangsorra kifejtett esetleges hatását tanulmányoztuk. Vizsgálataink szerint kortikoszteron injekció hatására a csoportban tartott patkányok agressziója fokozódik. Eredményeink arra utalnak, hogy a glukokortikoidok a magatartást rendkívül gyorsan képesek befolyásolni és az adott helyzetnek megfelelő válaszreakció kialakításában játszanak szerepet: míg szociális kihívás esetén a helyzettől függően territoriális ill. szociális agressziót fokozzák, addig nem szociális jellegű kihívás esetén az ún. kockázatfelmérő viselkedést növelik.

ETOL 4

A humán kontaktus eltérően hat-e a különböző nemekre házinyúlánál?

Dúcs Anita
IV. évf. biológia- környezettan
ELTE TTK Etológia tanszék
témavezető: Dr. Bilkó Ágnes

Számos állatfajnál megfigyelték, hogy egy bizonyos életkorban a fiatal állatok elhagyják anyjukat és elvándorolnak. A nyulak az első 5 hónap során hagyják el a fészket, és más territóriumokon telepednek le. A fiatal állatok önszántukból szóródnak szét, de a bakok gyakrabban és messzebbre vándorolnak, mint a nőtények (Künkele és von Holst; 1996). Az első vizsgálatban arra voltunk kíváncsiak, hogy a nyulak aktivitásában megfigyelhető-e ivari különbség, illetve ez a különbség az életkorral változik-e? Az eredmények alapján a 28 napos nőtények és bakok viselkedése között nem tudunk jelentős különbséget kimutatni nyílt- tér tesztben, azonban az ivarérett bakok és nőtények aktivitása között szignifikáns különbséget találtunk. A bakok aktívabbak, vagyis átlépésszámuk és megközelítésszámuk nagyobb.

Sok emlősfajnál létezik az egyedfejlődés korai szakaszában egy érzékeny periódus, mely során az utódok és az anyaállat között szoros kapcsolat alakulhat ki, de ez a kötődés az emberre is átvédhető, amennyiben a szenzitív időszakban kapcsolatba kerül vele az állat. Házi nyulak esetében kimutatták (Pongrácz és Altbacher, 1999), hogy a szenzitív periódus az életük első hetére esik, és ha ebben az időszakban szoptatás előtt vagy után kézbeveszik őket, akkor az emberrel szembeni félelmi reakciójuk jelentősen lecsökken, s ez a csökkent félelmi szint később, a kifejlett egyedeknél is kimutatható. Kutatások arra is fényt derítettek (Csatádi, szóbeli közlés), hogy a kézbevétel hossza nem, csupán az időzítés számít, tehát valószínűleg a bevésődés tanulási folyamatáról van szó. Vizsgálataink célja az volt, hogy felderítsük a nőtény és a bak nyulak félelmi reakciója között van-e eltérés? Az eredmények azt mutatják, hogy a 28 napos kezeletlen nőtények és bakok hasonlóan viselkednek a nyílt-tér tesztben, tehát sem az átlépés száma sem a megközelítésszám, sem a latencia nem különbözik a két nemnél, illetve a szenzitív periódusban való kézbevétel sem okozott különbséget a nemek között a félelmi reakció szempontjából.

ETOL-5

„Eblogika”: Tudnak-e a kutyák kizárásos alapon döntéseket hozni?

Erdőhegyi Ágnes
V. évf. zoológus
SZIE ÁOTK, ELTE TTK Etológia Tanszék
témavezető: Dr. Topál József

Az elmúlt évtizedekben számos, a kutyák tárgyrepresentációs képességét elemző vizsgálat igazolta, hogy ez a „szenzorimotoros intelligencia” tökéletesen fejlett a vizsgált fajban (pl. Gagnon és Doré 1992; 1993). Úgy találták, hogy a kutyák képesek egy tárgy számukra láthatatlan helyváltoztatásait kikövetkeztetni. Ezekből kiindulva vizsgálatunkban arra voltunk kíváncsiak, hogy a kutya rendelkezik-e olyan alapvető logikai képességekkel, amelyek a kizáráson alapuló döntések meghozatalához szükségesek tárgy-keresési helyzetekben.

Korábbi két rejtkehelyes, „rejtős-keresős” tesztjeink során megállapítottuk, hogy közvetlen vizuális információ esetén a kutyáknak nem okoz gondot elrejtett játékok megtalálása, azonban indirekt információ esetén az egyoldalú emberi kommunikációs jelzések félrevezethetik őket. Felvetődött továbbá az is, hogy a tesztek során a rejtkehelyek mozgása is hasonló zavaró hatással bírhat.

Jelenlegi kísérletünket úgy terveztük meg, hogy az emberi kommunikációs jelzések és a rejtkehelyek mozgása kiegyenlítsen jelenjenek meg. A kísérletben a következő próbatípusokat alkalmaztuk: megmutattuk a „jutalmazott” (REJTETT), vagy az üres rejtkehely tartalmát (ÜRES); felfedtük a „jutalmazott/üres rejtkehely tartalmát és a másikat csak mozgattuk, tapogattuk (KIEGYENLÍTETT REJTETT ÉS ÜRES); felfedtük mindkét rejtkehely tartalmát (MIND). Kontroll próbát is végeztünk, amelyben bár mindkét rejtkehelyet manipuláltuk (mozgattuk, tapogattuk), de nem adtunk információt a játék helyét illetően. Ugyanezeket a próbákat úgy is elvégeztük, hogy nem közvetlenül ember informálta a kutyákat, hanem egy 1,5 méter magas paraván mögül a kísérletvezető, a kutya számára láthatatlanul, zsinóron mozgatva emelte fel a rejtkehelyeket.

Eredményeink szerint a kutyák képesek lehetnek indirekt információ alapján kizárásos döntést hozni, amennyiben a mozgás és az emberi kommunikációs jelek kiegyenlítettek.

ETOL-6

Tárgyállandósági tesztek gibbonokkal

Fedor Anna, Skollár Gabriella
ELTE TTK 2004. biológus, 2004. biológus
témavezetők: Dr. Ujhelyi Mária†, Dr. Szathmári Eörs
SE Magatartástudományi Intézet, ELTE TTK Növényrendszertani Tanszék

Az állatok térbeli kognícióját sokszor tárgyállandósági feladatok segítségével vizsgálják. Számos kísérletet végeztek főemlősökkel is, ami alapján arra jutottak, hogy a nagy emberszabásúak meg tudják oldani a látható és nem látható áthelyezéseket is (6. szint), a közönséges majmok viszont csak a láthatóakat (5. szint). Valószínű azonban, hogy a főemlősök ilyen durva csoportosítása nem helyes, és figyelembe kéne venni a fajok ökológiai körülményeit is, mint fontos tényezőket a fajok kognitív képességeinek kialakulásában. Kíváncsiak voltunk, hogy a gibbonok milyen típusú és nehézségű tárgyállandósági feladatokat tudnak megoldani, mivel eddig még nem végeztek velük hasonló kísérleteket. Kísérleteinket úgy terveztük meg, hogy eredményeink összehasonlíthatóak legyenek más főemlős-kísérletek eredményeivel.

A kísérleteket Magyarország 6 állatkertjében végeztük, összesen 10 gibbonnal (*Symphalangus syndactylus*, *Nomascus gabriellae*, *Hylobates lar*, *Nomascus leucogenys*). Három egyforma fadobozt használtunk a tárgy (táplálék) elrejtésére, amikből azt a gibbonok maguk is ki tudták venni. Egyszeres látható, egyszeres nem látható, kétszeres nem látható és kontrol áthelyezéseket végeztünk random és nem random sorozatokban (a tárgy elrejtésének helyét randomizáltuk). A nem látható áthelyezések során a kísérletvezető a markába rejtette a tárgyat, mielőtt beletette volna valamelyik dobozba.

A gibbonok teljesítménye szignifikánsan a véletlen szerint várható fölött volt az egyszeres látható és nem látható és a kontrol áthelyezésekben, valamint a kétszeres, nem látható áthelyezések nem random sorozatában. A kétszeres, nem látható áthelyezéseket random sorozatban viszont nem tudták megoldani. Feltételezzük, hogy a gibbonok mentális reprezentáció révén oldották meg az egyszeres látható, egyszeres nem látható és a kontrol feladatokat, míg a kétszeres nem látható áthelyezéseket egyszerű stratégiák segítségével próbálták megoldani. Arra jutottunk, hogy az általunk vizsgált gibbonok átlagteljesítménye egyértelműen felülmúlja a közönséges majmokat és eléri a nagy emberszabásúak szintjét. Teljesítményük nagyon hasonló volt a de Blois és mtsai (1998) kísérletében szereplő orangutánokéhoz, aminek okát talán a két faj nagyon hasonló ökológiai körülményeiben és mozgásformájában (brachiáció) érdemes keresni, melyekhez nagyon hasznosak lehetnek az ilyen térbeli képességek.

A kutya emberrel való kommunikációjának lehetősége és korlátai: Egy esettanulmány eredményei

Gosztola Edit
V. évf. zoológus
ELTE TTK Etológia Tanszék
témavezető: Dr. Topál József

Számos, az utóbbi évben végzett vizsgálat szerint a kutya emberrel szemben mutatott interaktív viselkedését nem lehet kizárólag az asszociatív tanulási modellel magyarázni. Úgy tűnik, hogy az emberi kommunikációs gesztusok referenciális karakterének megértése is komoly szerepet játszhat a kutya viselkedésében (ld. Miklósi és mtsai., 2004 áttekintését). Ezt vizsgálandó egy longitudinális megfigyelés sorozatban résztvevő 6 éves belga juhász kutyát (Filip) teszteltünk olyan két-utas választási helyzetekben, ahol az ember által szolgáltatott informáló gesztusok referenciális és diszkriminatív sajátosságait manipuláltuk. Kérdésünk az volt, képes-e a kutya az emberi kommunikáció referenciális jellegét értelmezni, és adott esetben a jelek diszkriminálhatósága avagy azok referenciális sajátossága a fontosabb akkor, amikor azok alapján egy választási feladathelyzetben dönteni kell.

Azon szituációk mellett, ahol a kutyának két lehetséges tárgy közül kellett kiválasztania a megfelelőt egy ember informáló gesztusai segítségével, volt olyan kísérleti helyzetünk is, ahol tárgyakat kellett verbális megnevezés alapján beazonosítani úgy, hogy a tanítási szituáció vagy a kölcsönös figyelmen, vagy egy hagyományos kondicionálási paradigmán alapult. Eredményeink azt igazolják, hogy a kutya képes felismerni, és bizonyos fókig értelmezni az ember figyelmi állapotát, annak irányát, és számára egy kommunikációs helyzetben a jelek referenciális sajátosságai is rendkívül fontosak. Mindez megerősíti azt az elképzelést, hogy a domesztikáció során a kutya-ember kommunikáció sok szempontból egyedülálló sajátosságokkal bíró rendszerre alakult.

Idézett irodalom:

Miklósi Á., Topál J. & Csányi, V. 2004. Comparative social cognition: What can dogs teach us? *Animal Behaviour*. 67, 995-1004.

Korai szagtanulás tartósságának vizsgálata házinyulakon

Nyíró Antal István
V. évf. biológus
ELTE TTK Etológia Tanszék
témavezető: Dr. Bilkó Ágnes

Az emlősállatok esetében meghatározó az az információ, amit a szaglásuk révén szerezhetnek meg kémiai környezetükről. Az üregi ill. házinyúl esetében, melyek extrém módon, napi 3-4 percre csökkentették a szoptatási időt, különösen fontos lehet, hogy az elválasztást megelőző időszakban minél több ismeretet szerezzenek a külvilágról. A kisnyulak sikeres szopását egy ún. anyai feromon segíti, amely minden esetben egy sztereotip csöcskereső viselkedést vált ki. Ismert, hogy az állatok éltük első 5 napján képesek akár egyetlen alkalom révén is a szopáshoz idegen szagot kapcsolni, majd ez a szag a rákövetkező napon önmagában is kiváltja a keresési reakciót. Jelen munkában azt vizsgáltuk, hogy ez a bevesődés jellegű tanulás mennyire tartós hatású. Csincilla fajtájú házinyulak utódait életük első három napján kondicionáltuk oly módon, hogy az anyaállatok hasát szoptatás előtt 1:100 hígítású édeskömény ill. kakukkfű oldattal kentük be, kontroll állatok esetében nem történt szagosítás. Az utódok csöcskeresési reakcióját azután 4., 14. és 24. napos korukban édesköménnyel ill. kakukkfűvel szagosított, valamint szagosítatlan szőrön teszteltük. A teszt 90 mp-e alatt mértük a csecskereséssel, valamint az általános aktivitással töltött időt. A kontroll csoporthoz képest a 4. és a 14. napon mindkét kondicionált csoport szignifikánsan hosszabb keresési reakciót mutatott a kondicionált szagon, mint a kontroll szőrön. Ez a különbség az általános aktivitásban nem mutatkozott meg. A 24. napon azonban nem volt különbség az egyes csoportok között, állataink nem mutattak csecskeresési reakciót. Eredményeink arra utalnak, hogy a születéskor megtanult szagot a kicsik még 10 nappal később is biztosan felismerik. A 24. napon kapott negatív eredmény nem azt bizonyítja, hogy az állatok ekkor már nem emlékeznek a szagra, hanem azt, hogy az alkalmazott teszt, a csöcskeresés már nem elég érzékeny ebben az életkorban. Tudjuk, hogy elválasztáskorban megváltozik az állatok viselkedése számos téren. A szagfelismerés képességének tesztelése más szituációban, pl. szilárd táplálék vagy párválasztásban további eredményeket mutathat a memórianyom tartósságáról.

A külső hőmérséklet hatása a közönséges ürge hibernációjára (*Spermophilus citellus*)

Nyitrai Viktor
V. évf. biológus
ELTE TTK Etológia Tanszék
témavezetők: Dr. Altbäcker Vilmos, Németh István

A hazánkban élő közönséges ürge (*Spermophilus citellus*) életciklusában meghatározó az augusztustól márciusig tartó hibernációs periódus, melyet két jól elkülöníthető szakasz folytonos váltakozása jellemez egészen a felébredésig. Ezek az úgynevezett eutermikus (arousal), illetve hipotermikus (torpor) állapotok, melyek energia igénye között jelentős különbség van; befolyásolják a hibernáció energetikáját, az egyedi tömegváltozást. Szeminaturális vizsgálatban összefüggést találtak a torpor fázisok hossza és a hibernáció alatti külső hőmérséklet között. Kísérletünkben arra kívántunk válaszolni, hogy mesterséges körülmények között kialakított hőmérséklet-különbségnek van-e hatása a hibernáció mintázatára a hibernáció szakaszaitól függően?

A kezelések kialakításánál alapvető törekvésünk az volt, hogy a kezelési hőmérsékletek egyike a terepen tapasztalható szimulálja (5°C), a másik pedig egy annál 5°C-kal magasabb hőmérsékleti tartományt. A kísérlet során az előző évben született (yearling), hím egyedeket vizsgáltunk. A fészekdoboz hőmérsékletének regisztrálásán keresztül nyomon követtük az állatok testhőmérséklet-változásait, ezzel párhuzamosan, napi 24 órán át kamerával rögzítettük fészken kívüli aktivitásukat.

Eredményeink szerint a kezelés hatásos volt az egyedek tömegváltozására, emellett az 5°C-os csoportban a torpor hosszabbnak adódott, mint a 10°C-osban. Eltérés volt tapasztalható a hibernáció középső és késői szakaszában megfigyelhető mintázatok között is, a hőmérséklettől függetlenül.

A kapott eredményekből feltételezhetjük egy optimális hibernációs hőmérséklet, és egy, a környezeti hőmérsékletre is reagáló belső óra meglétét, amely organizálja a spontán felébredések hibernáció alatti gyakoriságát.

Sztereotip keresési viselkedés vizsgálata kutyán - Előkísérlet

Péter András
IV.évf. biológus
ELTE TTK Etológia Tanszék
témavezető: Dr. Pongrácz Péter

Sok vizsgálat irányult már a kutyák tárgyállandósági képességének vizsgálatára. Vizsgálták, hogy képesek-e megoldani látható és láthatatlan rejtést, vizsgálták, hogy mennyi ideig képesek emlékezni egy elrejtett tárgy helyére. Folytak vizsgálatok arra nézve is, hogy a kutya asszociáció vagy dedukció alkalmazásával keres-e. A hibák elemzésére és főleg a hibázások okára azonban még csak kevés kísérlet próbált választ adni. A most folyó kísérlet célja az, hogy kiderítsük, hogyan függ a kutyák keresési viselkedése attól, hogy milyen rejtési módot alkalmazunk.

Ennek érdekében egyszerű, látható rejtést alkalmazunk. A kutyát jól motiváló tárgyat öt, a kutyától 15m-re, félkörívben felállított paraván egyike mögé rejtjük, mindegyik mögé egyszer-egyszer, a jobb vagy a bal legszélső paravántól indulva és sorban haladva, összesen ötször. A rejtés kétféle módon történik:

- Direkt rejtés: a kísérletvezető (KV) a tárggyal a kezében egyenesen az aktuális paravánhoz megy, a tárgyat a kutya számára jól láthatóan a paraván mögé helyezi, majd egyből visszatér a kutyához

- Sztereotip rejtés: a KV mindig kimegy az 1. paravánhoz, a paravánok mögött elsétál az éppen aktuális paravánig, oda elrejt a tárgyat, továbbhalad az 5. paravánig, és onnan tér vissza a kiindulóponttra

Eredményeink alapján az látszik, hogy a Direkt rejtés esetén a kutyák többször választják elsősre a helyes paravánt (80%) mint a Sztereotip rejtésnél (60%). Utóbbi esetben nem véletlenszerűen hibáznak, hanem inkább azon paravánok irányában tévednek, ahova már történt rejtés, különösen a legelső rejtés helyére mennek szívesen elsőként. Ha azokat a tévedéseket elemezzük, amikor olyan paravánhoz mentek, melyhez még nem történt rejtés, ezeken belül kiemelt helyet foglal el az 5., vagyis a sorban legutolsó paraván. A Direkt rejtés esetén ilyen strukturáltságot nem tapasztalunk.

Feltételezzük, hogy mivel a KV a Sztereotip rejtésnél az első paraván felé indul, és az ötödiktől jön vissza, ezzel mintha egyfajta indirekt mutató történne ezekre a paravánokra. Direkt rejtésnél minden próbánál kétszeres indirekt mutató történik a helyes paravánra, míg sztereotip rejtésnél minden próbánál csak az 1. és az 5. paravánra történik indirekt mutató. Eredményeink szerint a kutya keresési stratégiája nem csak a tárgy mentális reprezentációjától függ, hanem a rejtést végző személy viselkedése által nyújtott információtól is.

ETOL-11

Az agresszivitás és az egyedi variabilitás összefüggései rendőr kutyáknál

Sudár Zsuzsanna

V. évf. zoológus

SZIE ÁOTK Ökológia Tanszék

témavezetők: Dr. Miklósi Ádám, Dr. Kabai Péter

Az ember és kutya kapcsolata a régi időkig vezethető vissza. Számos kutató elfogadja a több 10 000 éves együttélés gondolatát, és napjainkra már az a tény is bizonyítást nyert, hogy a kutya őse a farkas. Feltételezik, hogy a kevésbé agresszív ősi farkas falkákat az emberek megtúrták maguk mellett. Szelekciós előnyt jelentett az emberi közösségekhez való alkalmazkodás képessége. Mivel az agresszióra való hajlam nem szelektálódott ki teljesen, lehetővé vált egy későbbi megkülönböztető kiválasztás.

Az agresszió különböző megnyilvánulási formáit tudatos tenyésztéssel erősítették fel az őrző-védő fajtákban, melyek az ember szolgálatában állnak. Az ember iránt tanúsított agresszió fontos jellemvonása a rendőr-járőr kutyáknak, melyeket a rendőrök munkájának segítésére képeznek ki. Régóta tudott, hogy az agresszió genetikai alapja van, ezért a szakértők szelekcióval, ill. szelektív párosítással tenyésztették ki az őrző-védő fajtákat. A német juhászkutya fejlett védő készséggel és küzdő ösztönrel rendelkező, jól kezelhető fajta. Ma már szerte a világon a legtöbb ország rendőrségének kutyái főként e fajtából kerülnek ki.

Kimutatták, hogy a harapós és nem-harapós családi kutyák magatartása figyelemreméltóan stabil a különböző viselkedést vizsgáló tesztekben, viszont egymáshoz viszonyítva a két csoport viselkedését nagyok az eltérések. Kutatásunkban ki akartuk deríteni, hogy a rendőr kutyák, melyeket idegenekkel szembeni agresszivitásra képeztek ki, hasonló egyöntetűséget mutatnak-e viselkedésükben. Továbbá, a kiképzés ideje alatt nyújtott teljesítménye mennyire azonos a kiképzést bezáró vizsgán mutatott teljesítményével, ill. a már szolgálatot teljesítő, versenyen résztvevő kutyák teljesítményével.

2003 tavaszán, ill. őszén megfigyelésen alapuló kutatást végeztünk az Országos Rendőr-főkapitányság Kutyavezető-képző Iskolájában Dunakeszin. A kutyákat a kiképzés ideje alatt megfigyeltünk, olyan feladatok elvégzésekor, melyek célja a kutya kiképzése idegen ember elleni támadásra. Az adatok értékelésére egy kódolási módszert dolgoztunk ki, mely leírja a kutya viselkedési elemeit különböző helyzetekben. Ez az etogram viselkedési egységeket tartalmaz, mely leírja a támadás irányát (testrész), a támadás intenzitását (támadással eltöltött idő), kutyavezető és kutya kapcsolatát (figyel-e a kutya a gazdára akció közben). Célunk volt megállapítani, mennyire egyöntetű a kutyák magatartása a különböző agresszív viselkedést kiváltó helyzetek között. Ezzel a tanulmánnyal összefüggéseket szeretnénk felderíteni a viselkedés és a rendőri munkára való alkalmasság között.

ETOL-12

A közönséges hím ürgék szaporodási viselkedése (*Spermophilus citellus*)

Szabó Éva

V. évf. biológus

ELTE TTK Etológia Tanszék

témavezetők: Dr. Altbäcker Vilmos, Németh István

Más szezonálisan szaporodó emlősfajokhoz hasonlóan, az egy évben egyszer szaporodó ürgénél is a párzási időszakra jellemző szociális és hormonális események egy rövid, intenzív időszakra (kb. 3 hét) korlátozódnak, amely a téli álomból való ébredés után következik be. A hímek téli ébredésének időzítése összefügg a testtömegükkel, kondíciójukkal. A szaporodási időszakban ivarilag aktív hímek kifejlett herékkel, és az év egyéb időszakaihoz képest ugrásszerűen megnövekedett tesztoszteron szinttel jönnek a felszínre. Más emlősfajoknál találtak összefüggést a hímek hormonális állapota, kondíciója és párzási viselkedése (territoriális viselkedés, agresszió, fajspecifikus viselkedés) között. Terepi vizsgálatunkban ezt a feltételezett összefüggést kívántuk megvizsgálni a közönséges ürgénél.

A párzási időszak elejétől kezdve élvefogó csapdázással megfogtuk az egyedeket, morfológiai (tömeg, koponyahossz stb.) és fiziológiai mintát vettünk non-invazív módszerrel (ürülékből tesztoszteron bomlástermék meghatározása). A csapdázást a párzási időszak során többször megismételtük, az állatokon alkalmazott egyedi maradó (subcutan transzponder) és vizuális jelölés segítségével egyedileg követtük végig a hímek szaporodási viselkedését és annak változását.

Eredményeink szerint a hímek kondíciója és ivarérettsége összefügg. A kondíció és a hím nemi hormon pozitív korrelációban van. Az ivarérett és nem ivarérett hímek területhasználata eltérő, de nincs összefüggés a szaporodóképes hímek területhasználata és a tesztoszteron szint között. Egyéb fajspecifikus szaporodási viselkedésnél nem találtunk szoros összefüggést.

Eredményeink alapján a hím nemi hormon és a kondíció összefüggését a mi vizsgálatunk is alátámasztotta, de a szaporodási viselkedés és a tesztoszteron szint közötti szoros összefüggést mi nem tudtuk alátámasztani.

Családi környezetben élő kutyák viselkedésének többszempontú elemzése

Tóth Lilla

V. évf. biológus

ELTE TTK, Etológia Tanszék

témavezetők: Dr. Gácsi Márta, Dr. Topál József

A viselkedésvizsgálatok fő irányvonala a természetes vagy kísérleti populációk közötti összehasonlítás, ahol az egyéni fenotípusos különbségek hatását próbálják kiküszöbölni. Mindezek mellett egyre több közlemény foglalkozik a csoportokon belüli variabilitásért „felelős” egyedi különbségekkel. Számos - pl. madarak, főemlősök, malacok, kutyák vizsgálatával foglalkozó - tanulmány szól az egyedek viselkedésében fellelhető variabilitásról, illetve ezek lehetséges hátteréről. A temperamentum- és a karakterjellemzőket egyes szerzők „személyiségjegyeként” értelmezik, melynek dimenzióit több viselkedési változó együttesen alakítja ki.

Kidolgoztunk egy olyan tesztsorozatot, amely alkalmas lehet felnőtt kutyák „személyiségének” feltérképezésére. A 22 szituációból összeállított tesztsorozat olyan jellemző viselkedésjegyekről szolgáltat adatokat, mint pl. mennyire agresszív, játékos az adott állat. Az egyedek „viselkedési profilját” a 22 feladatban megfigyelt változók együttesen alakítják ki. Mostani elemzésünket 65 családi kutya eredményeinek felhasználásával készítettük. Több viselkedési változó vizsgálata alapján, faktoranalízissel háttérváltozókat (faktorokat) határoztunk meg, amelyek az egyedek közötti variabilitás nagy százalékát leírják. Két elemzést végeztünk el: az első faktoranalízisben a (feltételezhetően) agonisztikus szituációk, a másodikban pedig a játékhelyzetek változói szerepeltek. Az agonisztikus helyzetek változóinak statisztikai analízisével négy („poszesszív” játékoság”, „szeparációs szorongás”, „agresszív reaktivitás”, „önállóság”), a játékot tartalmazó szituációk változóival készített faktoranalízis során pedig három („küzdőjátékra való motiválhatóság”, „apportjátékra való motiválhatóság”, „elkerülés, félelem”) faktort különítettünk el. Vizsgáltuk a kor, az ivar és a fajta eredményekre gyakorolt hatását is.

Terveink között szerepel a viselkedési tesztek segítségével meghatározott másodlagos háttérváltozók összefüggésbe hozása bizonyos DNS szekvenciájú receptortípus meglétével. Ennek a kiindulási hipotézise az egyes temperamentum-változók és bizonyos neurotranszmitter-rendszerek közötti kapcsolaton alapszik. Ezenkívül célunk a mintaszám és az elemzésbe bevont tesztek számának növelése, és a minta heterogénabb tétele is.

A Létrási-Vizes-barlang telelő denevérfaunájának változásai 1985-től napjainkig

Barati Judit

V. évf. biológus-ökológus

DE TTK Hidrobiológiai Tanszék

témavezető: Dr. Nagy Sándor Alex

Kutatásaim célja, hogy a denevérek fokozottabb védelméhez hozzájáruljak. Munkámban egy olyan barlang denevérfaunáját mutatom be, ahol már az 1980-as években is folytak a denevérekkel kapcsolatos vizsgálatok (Lénárt László és Kováts Nóra).

A vizsgálat helye a Létrási-Vizes-barlang. Itt havonta egy alkalommal végeztünk megfigyeléseket. Ilyenkor hőmérsékletmérések, és a denevérek fajának, számának és helyzetének megállapítása történt. Az emberi zavarás hatásait úgy próbáltam mérni, hogy a barlangot látogató túrák számát és nagyságát összevettem a denevérek mozgásával.

Hőmérséklet szempontjából a barlang két részre bontható fel: a Hágcsós-terem és a Fő-ág egy hűvösebb klímájú régiót, míg a belsőbb járatok egy melegebb klímájú régiót jelentenek. A barlang átlagos hőmérséklete az elmúlt 20 évben megemelkedett.

A barlangban négy rendszeresen előforduló fajt találtam: *Myotis myotis* – közönséges denevér, *Myotis blythi* – hegyesorrú denevér, *Rhinolophus ferrumequinum* – nagy patkósorrú denevér, *Rhinolophus hipposideros* – kis patkósorrú denevér. A *Myotis myotis* egyedek (kb. 60-70) általában a Hágcsós-teremben és a Fő-ágban telepsznek meg, ez azt mutatja, hogy inkább hideg termekben szeretnek telelni. Az egyedek a mennyezeti sziklákon szabadon függeszkedve fordultak elő és gyakran csoportokat alkotnak. A *Myotis blythi* faj egyedei (kb. 15-20) szinte csak a Hágcsós-teremben telelnek. A legtöbb esetben csatlakoznak a közönségesek által kialakított szabadon függeszkedő csoportokhoz. Kováts sokkal több hegyesorrú, míg kevés közönséges denevért talált, mára ez az arány megfordult. A *Rhinolophus hipposideros* egyedek (kb. 60-70) a barlang teljes területén nagyjából azonos eloszlásban figyelhetők meg. Csoportokat sosem alkotnak, mindig egyesével, szárnyukba burkolózva függenek kitétt szikláról. A *Rhinolophus ferrumequinum* faj egyedei (kb. 15-20) a belső melegebb járatokban helyezkednek el. Egyesével, szárnyukba burkolózva kitétt sziklákról csüngenek alá.

A téli álmorán minden faj egyedeinél megfigyelhető egy bizonyos mértékű helyváltoztatás, főleg akkor, ha az adott hely valamilyen tényezője miatt kedvezőtlené válik. Ilyen a hőmérsékletváltozás, ami különböző mértékben befolyásolja az egyes fajok barlangon belüli elhelyezkedését; ill. az emberi zavarás, ugyanis a nagyobb túrák után nagyobb mértékű a denevéregedek átrendeződése, ill. több volt az ébren lévő egyed, mint akkor, ha a vizsgálatok nyugalmas időszakot követtek.

FAUNA-2

Egy invázió és egy őshonos halfaj morfológiai vizsgálata

Bereczki Csaba

III. évf. biológus-ökológus

DE TTK Hidrobiológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Nagy Sándor Alex, Takács Péter

Napjainkban egyre nagyobb gondot jelent a természetes vizeinkbe spontán, vagy emberi közreműködéssel bekerült halfajok jelenléte, illetve terjedése. Ezek a fajok kárt okozhatnak a növény-, illetve állatállományokban. Kompetitorai lehetnek az őshonos fajoknak, nagy alkalmazkodó és tűrőképességük lehetővé teszi, hogy szinte minden víztípusban megjelenjenek és kiszorítsák a kevésbé alkalmazkodóképes fajokat. Dolgozatunkban bemutatjuk az utóbbi években, az északkelet-magyarországi vizekben egyre nagyobb számban előforduló amuri géb (*Perccottus glenii* Dybowski, 1877) különböző állományainak testarány-viszonyait. E mellett az amuri géb állományok testarány-viszonyainak változékonyságát összevetjük az őshonos domolykó (*Leuciscus cephalus* Linnaeus, 1758) különböző vizekben élő populációinak testaránybeli változékonyságával.

Feltételezésünk szerint az őshonos domolykó testarányai jóval variábilisabbak lesznek. Egyrészt azért, mert őshonos volta miatt populációi szeparálódhattak egymástól, s ez a morfológiai viszonyokban is megnyilvánulhat, másrészt teljesen eltérő adottságú élőhelyekről is előkerült, amely szintén eltéréseket okozhat a morfológiai viszonyokban. A morfológiai vizsgálatokhoz 23 testparamétert mértünk tolmérővel. A mért adatok statisztikai elemzését SPSS for Windows 11.5.0 statisztikai programcsomag felhasználásával, diszkriminancia-analízissel végeztük. A módszer lehetőséget nyújt arra, hogy megállapítsuk az egyes mintavételi területekről gyűjtött állatok testarányainak variabilitását, illetve az egyes mintavételi területekről származó minták testarányok alapján való elkülönülését.

A vizsgálat eredményeként elmondhatjuk, hogy a mért testparamétereket tekintve a domolykó állományai jobban különböznek egymástól, mint az amuri géb állományai. Az amuri géb állományait legnagyobb mértékben elkülönítő paraméter a farokeresztmetszet és a faroknyélhossz. A domolykó állományok közötti elkülönülést több paraméter együttes hatása okozza. A domolykó állományai között nem, az amuri géb állományainál viszont találtunk az állományok valamilyen mértékű földrajzi elszeparálódására utaló morfológiai elkülönülést.

FAUNA-3

A közönséges mókus (*Sciurus vulgaris*) hazai állományainak elterjedés-ökológiája

Bösze Szilvia

V. évf. környezetgazdálkodási agrármérnök

SZIE MKK Környezet- és Tájgazdálkodási Intézet, Állattani és Ökológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Bakonyi Gábor, Bakó Botond

A közönséges mókus hazai vizsgálatainak hiányát pótolandó kezdtük el munkánkat 2001-ben. Célul a faj elterjedésének minél teljesebb és részletesebb feltérképezését tűztük ki.

A szakirodalmi és közgyűjteményi adatok szűkössége miatt széles társadalmi rétegeket bevonó „Mókusleső” programot dolgoztunk ki, teszteltünk (2002, Vác és környéke), és működtettünk országosan 2003-2004-ig. A program három éve alatt összesen négyezer „Mókusleső” adatlapot küldtünk ki iskolákba (általános-, közép- és szakiskolák), a hazai tíz nemzeti park igazgatóságára és összesen ötven erdészeti és vadászati társasághoz. A kitöltött és számunkra visszaküldött adatlapok adatait feldolgoztuk.

Az összegyűjtött adatokat adatbázisba rendeztük, majd elemeztük. 10 X 10 km U.T.M. hálótérképen ábrázoltuk a faj országos elterjedését. Az országos elterjedést összevetettük hazánk fás szárú vegetáció fedvényével. Három leválogatást hajtottunk végre az erdők struktúrájának közönséges mókus előfordulására gyakorolt potenciális hatása alapján, melyeket egyenként, külön fedvényekben tároltunk. Így készítettünk egy őshonos lombhullató fajok dominálta fás szárú vegetáció, egy nem őshonos fajok dominálta fás szárú vegetáció, valamint egy tűlevelű fajok dominálta fás szárú vegetáció fedvényét. A statisztikai analízisek és a térképi összevetések alapján következtetéseket vontunk le a faj egyedeinek elterjedés-ökológiai tulajdonságaira vonatkozóan.

Eredményeinket összevetettük külföldi vizsgálatok megállapításaival. Az összehasonlítás alapján meghatároztuk a külföldi és a hazai közönséges mókusok élőhelyigényének különbségeit. Az eltérésekre alapozva következtetéseket vontunk le a faj hazai helyzetének esetlegesen várható változásait illetően.

Vizsgálatuk a faj színváltozatainak geográfiai szegregációját, és megállapítottuk, hogy a hazai populációk ilyen jellegű eltérése nem szignifikáns.

Munkánknak köszönhetően sikerült hazánkban a közönséges mókusok vizsgálatát elindítani, a további kutatásokhoz alapadatokat biztosítani, és a jövőbeni feladatokat felvázolni.

FAUNA 4

A malakológiában gyakran használt mintavételi módszerek összehasonlítása

Czentye Ibolya, Tutkovics Bernadett
IV. évf. biológia-környezettan, V. évf. biológus-ökológus
DE TTK Evolúciós Állattani és Humánbiológiai Tanszék
témavezetők: Dr. Varga Zoltán, Sóllymos Péter

Az összehasonlító faunisztikai kutatások során lényeges szempont a gyűjtési módszerek összevethetősége, és a mintavételi ráfordítás ismerete. A hazai malakofaunisztikai kutatásokban leggyakrabban egyeléses és földminta/kvadrátos mintavételt alkalmaznak. Nyugat-európai munkákban – a talajminták mellett – az egyelés helyett idő-gyűjtést alkalmaznak, amikor is az egyelés időtartama is egységnyi ráfordítást jelent (pl. 1 óra/fő). Célunk az volt, hogy összehasonlítsuk a kvadrát-módszer és az idő-gyűjtés tulajdonságait.

Vizsgálatunkat az Aggteleki Nemzeti Park területén, a Ménes-völgy bejáratánál elhelyezkedő patakísérő égeres állományban végeztük. Öt darab 10 × 10 m-es kvadrátban, kvadrátonként 4 db random kijelölt 25 × 25 cm kiterjedésű és 1 liter térfogatú talajmintát vettünk (összesen 20 db minta). Emellett 5 fő 4 × 15 perces egyeléses időgyűjtést végeztünk (összesen 20 db 15 perces minta). Vizsgáltuk a mintavételi módszereknél jelentkező szisztematikus hibát (testméret-kategóriák és fajok foghatósága), a módszerek fajszámbecslő tulajdonságait, a gyűjtő személyének hatását valamint a csiga-fajok térbeli mintázatát kvadrát módszer esetén a diszpergáltsági index (Id) segítségével.

A fajok és a testméret-kategóriák foghatósága jelentős eltéréseket mutatott a két módszer összehasonlításában. Kvadrát módszerrel a kis-termetű fajok foghatósága volt magasabb, míg idő-gyűjtéssel a nagyobb termetűeké. A két módszerrel kimutatható fajszámok jó egyezést mutattak (kvadrát: 28 faj, idő-gyűjtés: 29 faj), ám a fajok eltérő foghatóságából fakadóan az összesített fajlista ezt meghaladja (35 faj), ezért a módszerek egymást kiegészítik és párhuzamos alkalmazásuk javasolt. A gyűjtő személye jelen vizsgálat során nem okozott különbségeket a fogott fajok számát tekintve. Heterogén és kevésbé fajgazdag élőhelyek esetén ennek hatása feltehetően erőteljesebben jelentkezik.

A vizsgált fajok egyedszámainak térbeli eloszlása szignifikánsan nem-random mintázatú, a diszpergáltsági index értékei erősen csoportosult (aggregált) eloszlást mutatnak. A diszpergáltság csak az egyedszámmal mutatott erős pozitív korrelációt. A magas konstancia értékek a fajkészlet állandóságát jelzik a minták között, a diszpergáltsági index magas értéke viszont a faj-abundanciák aggregációját jelzi. A megvizsgált fajok egyedszám értékeinek asszociáltsága magasnak adódott. Ez arra utal, hogy a fajok egyedszámai térben azonos trend szerint változnak.

FAUNA 5

Indikátor jelentőségű kismilősök térbeli mintázatának monitorozása bagolyköpet analízis alapján

Dudás Réka, Gondos Mónika és Kentzler Eszter
IV. évf. biológus, IV. évf. biológus, 2004. biológus
PTE TTK Zootaxonomiai és Szünzoológiai Tanszék
témavezető: Dr. Horváth Győző

Baranya megyében a gyöngybagoly köpetvizsgálatait 1985-ben kezdték el, amikor a Magyar Madártani és Természetvédelmi Egyesület Pécsi Helyi Csoportja 1985-86-ban a megye területén feltérképezte a gyöngybagoly költőhelyeket. Ez a felmérés, illetve az ehhez kapcsolódó köpetvizsgálatok a kismilős faunáról az addigi legtöbb adatot szolgáltatva, amelynek során 34 település templomtornyából gyűjtött köpetminta került feldolgozásra. A pécsi madártani csoport a '80-as évek végétől folyamatosan telepít gyöngybagoly költőládákat, 1994. végéig 42 db költőládát szereltek fel. A rendszeres ellenőrzések, állandó fészkelések kiváló alkalmat adtak a kismilősök elterjedésének rendszeres köpetgyűjtéseken alapuló monitorozására. A folyamatos köpetgyűjtések és elemzések adatait 1997-ig dolgoztuk fel.

Jelen dolgozatban hat indikátor tulajdonságú kismilősfaj: a törpeeger (*Micromys minutus*), a csalitjáró pocok (*Microtus agrestis*), az erdei cickány (*Sorex araneus*), a törpe cickány (*Sorex minutus*), a mezei cickány (*Crocidura leucodon*) és a keleti cickány (*Crocidura suaveolens*) térbeli eloszlását és mennyiségi viszonyainak tér-időbeli alakulását elemeztük. Bár köztudott, hogy a baglyok, így a gyöngybagoly is bizonyos mértékben szelektív ragadozó, de a köpetekből kapott indirekt adatok jól alkalmazhatók a legtöbb kismilősfaj település léptékű ponttérképezésére és a tömegességi viszonyaik kvantitatív nyomon követésére. Az elemzésre kiválasztott fajok a speciálisabb, elsősorban természetes, vagy természetközeli élőhelyet indikálnak, többségük védett, illetve a cickányoknak, mint másodlagos fogyasztóknak fontos indikációs szerepük van egy adott terület közösségi ökológiai állapotát tekintve.

A térinformatikai módszerrel történő elemzésében a vizsgált fajok 10×10 km-es UTM négyzetenkénti előfordulását, illetve relatív arányának megoszlását ábráztuk a monitorozási időszakoknak megfelelően. Az UTM lépték, mint a fajok elterjedésének hagyományos eljárása mellett, alapvetően a középtájszintű mennyiségi különbségekre voltunk kíváncsiak. A középtájakra vonatkozó értékelés most kerül bevezetésre az NBmR programjába, így fontos kérdés annak vizsgálata, hogy az egyes középtájakra összevont adatsorok, akár kitüntetett kismilős fajok esetén is mennyiben reprezentálják az egyes földrajzi tájegységeket elkülönítő középtájukat. Baranya megyében két nagyobb területű középtáj hasonlítható össze (Drávamenti-síkság, Mecsek és Tolna-Baranyai-dombság). E két tájegység adatait a teljes megye elemzéséből származó adatokkal is összevetettük.

FAUNA

Az Észak-Adria sekélytengeri állatvilága

Kéri Péter

2004. biológia-testnevelés-földrajz

BDF TTKK Állattani Tanszék

témavezető: Dr. Szinetár Csaba

A Berzsényi Dániel Főiskola Állattani Tanszéke közel 15 éve szervez terepgyakorlatokat az Észak-Adria térségébe. Ezekon az utakon minden esetben tudományos gyűjtőmunka is folyik. Így az évek során egy nagy számú és szakmailag nagyon értékes, de gyűjteményileg nem rendezett anyag halmozódott fel az intézményben.

Mivel Magyarországon nem ismertem olyan közgyűjteményt, melynek témáját a sekélytengeri élővilág képezi, valamint személyes indítatásomat tekintve is vonz a tengerbiológia, úgy határoztam, hogy ebből a témából készítem el dolgozatomat.

Ugy gondolom bármennyire is szélesek modern korunkban a multimédia által kínált szemléltetési lehetőségek, ezek soha nem pótolhatnak egy tudományos szempontból szakszerűen elkészített preparátum kollekciót. Másodsorban, a téma hazai irodalmát is nagyon szegényesnek találom, így valamelyest ennek a hiánynak a pótlása is célom volt.

Az alapkollekcióba bekerülő fajok kiválasztásánál több szempontot is figyelembe kellett vennem. A fő cél a terület legjellemzőbb fajainak a kiválasztása volt. Ezzel együtt gyűjtött ritkaságok preparálását és tudományos dokumentálását is elengedhetetlennek tartottam. Emellett célom volt, hogy a preparátumok prezentálják a legfontosabb rendszertani taxonokat és a legjellemzőbb sekélytengeri életformákat.

A preparátumok készítésénél figyelembe kellett vennem, hogy egy közgyűjtemény szerepét fogják betölteni, valamint az intézmény jellegéből adódóan oktatási célokat is el fognak látni. Ezért törekedtem arra, hogy a kész preparátum, minél jobban visszaadja az adott faj természetes megjelenési formáját.

A dolgozatban dokumentáltam a preparálási és gyűjtési módszereket is. A fajok ismertetése mellett törekedtem a tengeri élettér és kiemelten az Észak-Adria bemutatására. Foglalkoztam az Adria természetföldrajzával, földtörténeti változásaival és ökológiai jellemzőivel. Bemutattam azokat a konkrét észak-adriai helyszíneket, ahol a gyűjtések történtek. Közel két éves munkám során elkészült a gyűjtemény alapkollekciója, amely közel 50 nedves készítményből és száraz preparátumból áll.

FAUNA

A Villányi-hegység Orthoptera-együtteseinek összehasonlító vizsgálata

Kisfali Máté, Jancsek Edina

III. évf. biológus, V. évf. biológus

DE TTK Evolúciós Állattani és Humánbiológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Rácz István, Nagy Antal

A Villányi-hegység domborzati és klimatikus adottságai számos az egyenesszárművek számára kedvező füves élőhely kialakulását tették lehetővé. A 2003-2004-ben a hegységben végzett kutatásaink eredményeit mutatjuk be dolgozatunkban.

A vizsgálat során 35 faj (16 *Ensifera*, 19 *Caelirera*), 2604 egyedét fogtuk be 26 mintaegységben. A hegységből eddig leírt 45 faj mellé három új előfordulását sikerült kimutatnunk (*C. fuscus*, *M. maculatus*, *C. loratus*), így a leírt fajok száma 48-ra emelkedett. Ez a hazai fauna 39,67%-a, ami tekintettel a hegység kis kiterjedésére igen magasnak mondható.

A befogott fajok közül négy – *I. modesta*, *I. modestior*, *S. pedo*, *A. strepens* – védett. Kiemelendő még a hazai faunában ritka *P. gracilis* és *O. decipiens*, melyek az Orthoptera fauna mediterrán színező elemei.

A többváltozós statisztikai elemzés során a mészkő- és dolomit-sziklagyepek alkottak nagyobb csoportot, melyeket a növényzeti struktúra alapján további kisebb csoportokra oszthattunk. A dolomit-sziklagyepeken belül egy zártabb, és egy nyitabb növényzetű csoportot adhatunk meg. A mészkő-sziklagyepek együttese nyílt mészkő-sziklagyepek, zárt mészkő-sziklagyepek és átmeneti mészkő-sziklagyepek csoportjaira bonthatók.

A korábbi években tapasztaltakkal összhangban a vizsgált két évben is a thamnó- és chortobiont fajok dominanciája volt kimutatható. Az egyes életforma típusok relatív gyakoriságában a geo-chortobiont fajok kivételével minden esetben szignifikáns eltérést tapasztaltunk.

A faunakörök arányában az egyes típusok tekintetében szignifikáns különbség mutatkozott. A mediterrán elemek aránya a zártabb dolomit- és a mészkő-sziklagyepekben, sőt az átmeneti típusú mészkő-sziklagyepekben is szignifikánsan magasabb volt, mint a nyílt mészkő sziklagyepek esetén (*P. giornae*, *O. pellucens*, *S. pedo*, *R. germanica*, *O. decipiens*).

Az elemzés utolsó lépéseként a csoportok karakter fajait határoztuk meg. A hegység egészére jellemző általánosan elterjedt fajok közül a *S. pedo* és az *R. germanica* emelhető ki. A dolomit sziklagyepek szimmetrikus karakter fajai a *P. giornae* és a *S. lineatus*, a mészkő-sziklagyepeké pedig a *P. grisea*.

Reméljük, munkánkkal hozzájárulunk eddig még kellően nem ismert, de értékes és a már védett természeti értékek megóvásához.

FAUNA-8

Egy mátraalji település környéke éjjeli lepke-faunájának vizsgálata (Lepidoptera, Macroheterocera)

Korompai Tamás
V. évf. biológus-ökológus
DE TTK Evolúciós Állattani és Humánbiológiai Tanszék
témavezető: Dr. Varga Zoltán

Mivel Verpelét környéke lepkészeti szempontból „fehér foltnak” számít, ezért elsődleges célom volt, hogy minél részletesebb képet kapjak ezen területnek a lepkefaunájáról. Majd az egyes faunaelemek és faunakomponensek mennyiségi viszonyai alapján állatföldrajzi és ökológiai szempontból jellemzem az újonnan ismertté vált faunát. Jelen dolgozatban csak a Verpelét belterületéről származó éjjeli Macrolepidoptera adatokat dolgozom fel. 2001 márciusa és 2004 szeptembere között körülbelül 200 alkalommal gyűjtöttem adatokat, így 363 fajt sikerült kimutatni a megfigyelési helyszínről. Ez a hazai fauna (1095 faj) 33,15%-a. Ez az adatmennyiség (kb. 4000 adat) alkalmas a helyi éjjeli lepke-fauna állatföldrajzi és ökológiai elemzésére.

A vizsgálat módszere éjszakai lámpázás volt, fényforrásként egy 125 W-os HGLI nagynyomású higanygőzlámpát használtam. Főleg tavasszal és ősszel a lámpázás mellett csalétkézést is végeztem. Ezzel a módszerrel a fényre kevésbé vagy egyáltalán nem reagáló fajokat hatékonyan lehet gyűjteni.

Az így ismertté vált éjjeli Macrolepidoptera-faunát állatföldrajzi szempontból a különböző faunaelemek, míg ökológiai szempontból a különböző faunakomponensek mennyiségi viszonyai alapján jellemzem, illetve hasonló szempontok szerint összehasonlítom a teljes hazai éjjeli Macrolepidoptera-faunával.

Mivel Verpelét környéke nagyrészt mezőgazdaságilag művelt területekből áll, így az érzékenyebb fajok – ezek általában egy terület faunájának színező elemeit adják (pl. atlanto-mediterrán, holomediterrán-turkesztáni, pontomediterrán-holomediterrán, xeromontán, stb.) – itt már nem találják meg létfeltételeiket. A helyi fauna gerincét az alapfaunánkat alkotó euroszibériai faunaelemek, illetve a megváltozott környezeti körülményekhez jobban alkalmazkodott euryök fajok alkotják.

Ugyanakkor az országos átlagnál (22,65%) magasabb arányban vannak képviselve a holomediterrán elemek (24,24 %). Amennyiben valamennyi mediterrán vonatkozású elem (holo- és pontomediterrán) relatív gyakorisági értékeit összegezzük, akkor a fauna ellentétes komponensét képviselő szibériai elemekkel (14,60%) szemben 13,22%-nyi többlet mutatkozik, ami több, mint az országos átlagokban mutató különbség (30,69 – 17,99 = 12,70). Ez összhangban van azzal a körülménnyel, hogy az Északi Középhegység hegylábi területein erőteljes a szubmediterrán éghajlati hatás.

FAUNA-9

A Mecsek-hegység szárazföldi csiga-együtteseinek ökofaunisztikai vizsgálata

Tutkovics Bernadett, Czentye Ibolya
V. évf. biológus-ökológus, IV. évf. biológia, környezettan
DE TTK, Evolúciós Állattani és Humánbiológiai Tanszék
témavezetők: Dr. Varga Zoltán, Sóllymos Péter

A Mecsek-hegység folyamatosan, de nem túl intenzíven kutatott téja hazánkban. Gebhardt Antal munkássága (1951-56) óta összehasonlító malakofaunisztikai munka nem készült a területről. Célunk ezért az volt, hogy összevethető mintavételi módszerek alkalmazásával feltárjuk a hegység malakofaunáját és elvégezzük a területek összehasonlítását.

A Középső-Mecsekben 15, a Keleti-Mecsekben, pedig 6 élőhelyet vizsgáltunk meg kvadrát-és idő-gyűjtéses mintavétel segítségével. A minták feldolgozása során legfajgazdagabbnak a Nagy-Mély-völgy és a Szuadó-völgy patakísérő társulásai mutatkoztak. Emellett a szárazabb tölgyesek, sziklaerdők és sziklagyepek (Jakab-hegy, Tubes, Dömörkapu) fajszáma is viszonylag magasnak tekinthető. A legalacsonyabb fajszámot a Jakab-hegy (csúcsi tetőerdő) és a Kelet-Mecsek (Kisújványa, Döggút-tető) terület esetében tapasztaltuk.

Kiemelendő, hogy az alapkőzetbeli különbségek (mészkö-homokkő) nem okoznak markáns különbséget a területeken élő fajok számát tekintve, különbség inkább az egyedszámokban mutatkozik. A többváltozós elemzés eredményei alapján arra következtethetünk, hogy a növényállományok nedvességviszonyai mellett bizonyos mikro-élőhelyek (pl. sziklák) jelenléte a legfontosabb tényező a csiga-együttesek összetételének kialakításában.

FLORI-1

Csipak-semlyék védett növényeinek felmérése

Agyagási Anett
V. évf. biológia
SZTE TTK Ökológia Tanszék
témavezető: Bozsóné Dr. Margóczy Katalin

Dolgozatomban Csipak-semlyék Természetvédelmi Terület védett növényeinek feltérképezését és az állományok jellemzését tűztem ki célomul. Az adatokat 2003 tavaszától 2004 augusztusának végéig történt terepbejárások során gyűjtöttem. Az alábbi védett növényfajok fordulnak elő a semlyék területén: *Agrostemma githago*, *Anacamptis pyramidalis*, *Centaurea sadleriana*, *Cirsium brachicephalum*, *Crocus reticulatus*, *Gentiana pneumonanthe*, *Iris sibirica*, *Ophrys sphegodes*, *Orchis laxiflora ssp. palustris*, *Orchis morio*, *Orchis coriophora*, *Muscari botryoides*, *Stipa borysthénica*. A 2003-as év száraz, meleg és a 2004-es év csapadékosabb időjárása szembetűnő változásokat okozott a populációk megjelenésében (több faj esetében nőtt a virágzó példányok száma). Így pl. a mocsári kosbor és a pókbangó esetében az állományok kiterjedése volt tapasztalható 2004-ben. Ugyanakkor a kiskészű aszat állományainak kiterjedése csökkent a csapadékosabb évben. 2003-hoz képest 2004-ben "új" fajok is megjelentek, mint a poloskaszagú kosbor, az agárkosbor, a vitézvirág és a konkoly.

Mivel a fajok vegetációs környezete sokat elárul a terület jelenlegi helyzetéről, röviden jellemeztem a védett növények társulástani elhelyezkedését is. Sajnos egyre inkább a terület szárazodása tapasztalható, szárazabb években a talajvízszint tartósan alacsonyan marad, ami nem kedvez a semlyékek jellegzetes élővilágának. Az átalakuló vegetáció csak az előrejelzője a hosszabb távon esetlegesen bekövetkező változásoknak, ami akár egyes növényfajok eltűnéséhez is vezethet.

A védett fajok megőrzése szempontjából fontosnak tartom az állományok ellenőrzését, nyomon követését, vegetációs környezetükkel együtt. Fontos lenne a változások hátterében gyanítható tényezők feltárása, amit nagyban segít a területen jelenleg folyó hidrogeológiai vizsgálat.

FLORI-2

A Kis- és Nagy-Szamos ártéri élőhelyeinek állapotfelmérése inváziós növényfajok segítségével

Fenesi Annamária, Bartha László
I.évf. vízi és szárazföldi ökológia magiszter, II évf, biológia
BBTE Biológia és Geológia Kar, Rendszertan és Ökológia Tanszék
témavezető: Dr. Ruprecht Eszter

Napjainkra a sokrétű emberi tevékenység következményeként nagyon leszűkült az értékes, természetes élőhelyek aránya. A degradációt fokozzák azok az agresszív terjedő tájidegen kompetitorok, amelyek behatolnak a természetes társulásokba és azok szerkezetét, összetételét megváltoztatva, jellegtelen, értéktelen állományokat hoznak létre.

A folyóvizek árterei fokozottan veszélyeztetettek ilyen szempontból, elsősorban azért, mert az antrópikus gazdálkodás jelentős mértékben tönkretette, átalakította ezeket az élőhelyeket. Másodsorban ezek instabil rendszerek, melyek az időjárási tényezőktől függenek, egyre megújuló lehetőséget nyújtanak a propagulumok megtelepedésére és új fajok befogadására, ezért a parti élőhelyek előzőnövelhetősége kiemelkedő. Ugyanakkor a lineáris terjedés segíti, sőt felgyorsítja a növényi inváziót.

A jelen vizsgálat célja a Dés feletti Szamos-szakaszok ártéri vegetációjának állapotfelmérése volt, az élőhely-típusok és azok természetességének megállapításával, külön figyelmet fordítva az inváziós fajok mennyiségére, lévén a degradáltság egyik legbiztosabb jelzője.

Eredményeink alapján az emberi tevékenység következtében a Kis- és Nagy-Szamos ártéri élőhelyei fokozott mértékben degradáltak és szennyezettek inváziós fajokkal. Az emberi tevékenységek közül leginkább az ember aktív jelenléte (pl. taposás) és a szemetelés a legjellemzőbb, ugyanakkor az ártéri területek beszántása szintén gyakori és természetvédelmi szempontból káros tevékenység. Természetes élőhelyeket csak közvetlenül az eredés közelében találunk, de az intenzív bányászati és faipari kitermelések ezeket az élőhelyeket is veszélyeztetik. A folyó alsóbb szakaszain a legtöbb esetben alig felismerhetők az eredeti élőhelyek, erősen leromlott állapotot mutatnak, jellegtelen fajkészlettel, ahol a zavarástűrő fajok uralkodnak, és jelentős borításértékkel vannak jelen az adventív fajok. Ezek a lágyszárú magaskórós özönfajok néhol monodomináns állományokat is képeznek. Az inváziós fajok közül a csicsóka (*Helianthus tuberosus*) térhódítása a legveszélyesebb, gyakoriságban és borításértéken is messze elmaradva követi a süntök (*Echinocystis lobata*), az olasz szerbtövis (*Xanthium italicum*), a magas és kanadai aranyvessző (*Solidago gigantea*, *S. canadensis*).

FLORIS

A Belső-Somogy tőzegmoha előfordulásai

Fodor Andrea
2004. biológus
ELTE TTK Növényrendszertani és Ökológiai Tanszék
témavezető: Szurdoki Erzsébet

A bemutatásra kerülő munka Belső-Somogy tőzegmoha előfordulásait vizsgálja florisztikai szempontból. Ennek során a szerző (1) megkereste a korábbi leírásokban szereplő előfordulásokat; (2) ellenőrizte a herbáriumi gyűjtéseket; (3) felkereste az újabban előkerült tőzegmoha állományokat.

A Belső-Somogyból összesen 33 tőzegmoha lelőhely ismert, amelyek közül napjainkban 16-ban van jelen a *Sphagnum*. Az itteni égerlápokban és zombékosokban az 1920-as években még viszonylag nagyobb mennyiségű tőzegmoha élt, de az állományok egy része a terület degradálódása során már az 1940-es évekre elpusztult. Mára a tőzegmoha előfordulások száma, valamint a megmaradt foltok mérete is jelentősen lecsökkent. A Barcsi Borókásban napjainkban öt tőzegmoha előfordulás lelhető fel, a területről legkorábban leírt állományok elpusztultak, és az 1980-as években előkerült foltok jelentős része mára szintén eltűnt, de egy újabb előfordulás vált ismertté. A Baláta-tavon található meg ma a környező kaszói erdőtömbben további hét mélyedésben található meg ma a tőzegmoha, de a korábban leírt előfordulások (Bükki-puszta, Csatár-tó és Senta) eltűntek innen. E két területen kívül egy további állomány található Mesztegnyő mellett, amely friss meglepedés. A többi korábban leírt előfordulás (Görgeteg, Nagybjom és Varászló) elpusztult. A buckaközi lápok szárazabbak lettek, elgyomosodtak, sokukban nagy teret hódított az idegenhonos alkörmös (*Phytolacca americana*). A korábbi idős lábas égereket felárkolták, vizüket elvezették, és többnyire telepített erdőkkel váltották fel.

Az idők során összesen 13 tőzegmoha faj került elő a Belső-Somogyból. Az 1980-as évekig hét tőzegmoha fajt ismertettek innen: *Sphagnum contortum*, *S. denticulatum*, *S. fallax*, *S. palustre*, *S. platyphyllum*, *S. russowii* és *S. subsecundum*, majd az 1990-es években még *S. angustifolium*ot is találtak, valamint *S. cuspidatum*, *S. fimbriatum*, *S. girgensohnii* és *S. squarrosum* előfordulást is közöltek. Munkám során hat faj jelenlétét figyeltem meg: *S. denticulatum*, *S. fallax*, *S. fimbriatum*, *S. palustre*, *S. squarrosum* és *S. teres*, amely utóbbi a korábbi gyűjtések során nem került elő.

A Belső-Somogyban a *S. palustre* a leggyakoribb tőzegmoha faj, jelenleg 9 helyen található meg. Ezt követi a *S. fallax* 4, majd a *S. fimbriatum* 3 előfordulással. A *S. denticulatum* és a *S. teres*, melyeket az utóbbi évtizedekben nem találtak meg máshol az országban, két-két helyről is előkerült a területről.

FLORIS

A talaj savanyú kémhatását jelző gyomfajok elterjedése Észak-nyugat Dunántúlon

Szendrői Viktória
IV. évf. agrármérnök
NYME MÉK, Növénytan Tanszék
témavezető: Dr. Pinke Gyula

A talajok kémhatása, valamint az ásványi anyagok felvehetősége, így a talaj termékenysége között szoros összefüggés van. Savanyú közegben bizonyos kémiai és mikrobiológiai okok következtében a növények számára nehéz a N, a P, és a Mg felvétele. Így a pH érték olyan tényező, amely a növényeket nem közvetlenül, hanem a savanyú talajok gyakori tápanyagszegénysége révén befolyásolja. Ezekből kifolyólag egyes kultúr- és gyomnövények nagyon érzékenyek a talaj kémhatásra. A növények egy része a savas, mások inkább a lúgos kémhatású talajt kedvelik.

A talaj savanyú kémhatását jelző fajokra az intenzív mezőgazdálkodási módszerek közül a műtrágyázás és a meszezés volt a legnagyobb hatással. A meszezés hatására visszaszorulnak egyes savanyúságjelző fajok, sőt egész társulások is.

A talaj savanyú kémhatását jelző gyomnövények: pl. a juhsóska (*Rumex acetosella*), egynyári szikárka (*Scleranthus annuus*), parlagi csibehúr (*Spergula arvensis*), piros budavirág (*Spergularia rubra*), ördögmák (*Papaver argemone*), parlagi pipitér (*Anthemis arvensis*), nagy ugarpalástfü (*Aphanes arvensis*), borzas porcika (*Herniaria hirsuta*), német penészvirág (*Filago vulgaris*), négymagvú bükköny (*Vicia tetrasperma*).

A dolgozatban a Kisalföld, a Dunántúli-középhegység és a Nyugat-Magyarországi peremvidék szántóterületeiről, az elmúlt években gyűjtött florisztikai adatokat CEU rendszerű kvadrátokban adom közre. Azokat a talaj savanyú kémhatását jelző fajokot választottam ki, melyeknek R indikátor-értéke 5-ös vagy az alatti értéket mutat, vagy 6-os érték esetén a faj előfordulási súlypontja egyértelműen a talaj savanyú kémhatását jelző társulástani alegységekben van. Részletesen foglalkozom a *Veronica agrestis*, *Thlaspi alliaceum* és az *Anthoxanthum puelii* előfordulásával.

Az életforma megoszlás vizsgálata alapján a legtöbb faj (43%) az ősszel csírázó nyár elején virágzó növények (T₂) közül került ki. A tavasszal csírázó nyár eleji (T₃) és a nyárutói (T₄) fajok részesezése közel azonos (19% ill. 21%). A flóraelem spektrum azt mutatja, hogy a legjelentősebb arányban a szubmediterrán (19%), az eurázsiai (19%) és a mediterrán (17%) fajok szerepelnek.

FLORA-5

Mohaflorisztikai vizsgálatok az Órség területén

Szűcs Péter
IV. évf. környezetmérnök
NYME EMK Növénytan Intézet Tanszék
témavezető: Dr. Király Gergely

A további mohaflorisztikai kutatás az Órség területén első hallásra nem látszik indokoltnak, hiszen a területtel kapcsolatosan több mohaflorisztikai mű is készült (PAPP – RAJCZY 1996; ÓDOR – SZURDOKI – TÓTH 2002), melyek meglehetősen alaposak és számos ritka fajt is leírnak.

Munkám mégsem mondható hiábavalónak, hiszen a kutatásom során összesen 347 rekord felvétele történt meg, melynek eredményeként 89 faj került elő a kutatási területről, számos taxonhoz új lelőhelyek párosíthatók, és a területre nézve új fajok is előkerültek.

Így a területre nézve új fajnak tekinthető a *Riccia glauca*, a *Brachythecium mildeanum*, a *Bryum caespiticium*, a *Neckera pumila*, és a *Ptilium crista-castrensis*. Az utóbbi két faj országos viszonylatban is ritkaságnak számít.

Ezenfelül a következő – országosan ritkának mondható – fajokat is sikerült kimutatni a területről: *Anthoceros agrestis*, *Phaeoceros laevis ssp. carolinianus*, *Blasia pusilla*, *Lepidozia reptans*, *Nowellia curvifolia*, *Plagiochila asplenioides*, *Ptilidium pulcherrimum*, *Scapania nemorea*, *S. mucronata*, *Amblystegium humile*, *Calliergon cordifolium*, *Dicranum flagellare*, *D. spurium*, *Fontinalis antipyretica*, *Thuidium tamariscinum*.

FLORA-6

A Bátorligeti Ósláp Természetvédelmi Terület növényvilága

Tinya Flóra
V. évf. biológus
ELTE TTK, Növényrendszertani és Ökológiai Tanszék
témavezető: Dr. Tóth Zoltán

A Bátorliget Ósláp TT a Nyírségben, Nyírbátortól mintegy 15 km-re délkeletre fekszik. Hazánk egyik legkorábbi védett területe, amelynek vegetációtérképét az elmúlt évszázadban többször is elkészítették, legutóbb 1989-ben. Vizsgálatom célja a láp mai állapotának felmérése, ill. az elmúlt tizenöt év és az utóbbi évtizedek változásainak értékelése.

A terepi munkát 2004 tavaszától kezdve végeztem. Légifelvételek és a terület bejárása alapján megrajoltam a terület vegetációtérképét. Az egyes vegetációfoltokról részletes szöveges jellemzést készítettem. Bizonyos élőhelytípusokban megismételtem az 1990-es cönológiai felvételeket. Összeállítottam továbbá minden élőhelyfolt fajlistáját. Egyes kiemelt (védett, inváziós, stb.) fajok előfordulását ponttérképen ábrázoltam.

A vizsgált területre legjellemzőbb vegetációtípusok a fűz- és nyírlápok, mocsarak, magassásosok, mocsárrétek, kaszálórétek, keményfaligetek, szárazabb homoki tölgyesek és akácok.

A területen bekövetkezett legfontosabb változások a szukcesszió felgyorsult előrehaladása, a vízháztartás romlása, a tápanyag felhalmozódása, az inváziós és egyéb gyomok előtörése. Ezek eredményeképpen a 15 évvel ezelőtt a terület legértékesebb részét jelentő láprétek teljesen átalakultak, elszegényedtek. Helyükön ma homogén, *Carex acutiformis* és *Carex riparia* dominálta magassásos társulásokat találunk, néhány alászorult lápi fajjal. A rétek kiterjedése folyamatosan csökken, a nem megfelelő kezelés következtében cserjésednek, erdősödnek. A szárazabb homoki tölgyesek cserjeszintjében az akác (*Robinia pseudo-acacia*) vált uralkodóvá. A keményfaligetek állapotában nem történt jelentős változás.

A védett fajok számában csökkenés tapasztalható. A mocsári angyalgökörnek (*Angelica palustris*) közel 150 töves állománya fordul elő, a szibériai nőszirm (*Iris sibirica*) egyedszáma növekedett. Visszaszorult azonban többek között a pompás kosbor (*Orchis laxiflora subsp. elegans*), valamint egyáltalán nem került elő például a tözegeper (*Potentilla palustris*), a szibériai hamuvirág (*Ligularia sibirica*) és a lápi nádtippán (*Calamagrostis neglecta*).

GENETIKA

Egy ABC transzporter mutáns *Arabidopsis* jellemzése

Borsos Éva

V. évf. biológus

SZTE TTK Genetika és Molekuláris Biológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Szabados László, Dr. Maróy Péter

A kutatás célja egy olyan T-DNS inszerciós mutagenézissel előállított *Arabidopsis thaliana* jellemzése, amelyben a beépült T-DNS az *At1g17840* gént inaktiválta.

A tanulmányozott L213 vonal a pTLUC promótercsapda vektor segítségével készült. A vektor egy promóterhiányos luciferáz riportergént hordoz, amely a T-DNS jobb integrációs részéhez közel van beépítve és génfúziós markerként szolgál. A gének promótercsapda általi azonosítása azon alapul, hogy a promóter nélküli reporter gén beépül a növényi gén átíró régiójába, és ha ez a megfelelő orientációban történik, akkor génfúziót hoz létre, ami aktiválja a luciferáz gén transzkripcióját. Megfelelő szubsztrát adása után biolumineszcencia detektálható a növényi szövetekben nagy érzékenységű CCD kamera rendszerrel. Az L213 vonalnál ez a hajtásban és a levélben volt látható. A hygromycin rezisztencia szegregációs teszt egy inszert beépülésére utalt és arra, hogy a lumineszcencia kapcsolt a T-DNS-sel.

TAIL-PCR módszerrel felamplifikáltuk az inszerció körüli növényi genomikus szekvenciákat. A térképezés eredménye azt mutatta, hogy a T-DNS az *At1g17840* génben, az ATG kodontól 190 bázispár távolságra 5' irányba található. A TAIR adatbázis szerint ez a gén egy putatív ABC transzportert kódol.

A gén funkciójának tanulmányozása érdekében egy homozigóta-, egy heterozigóta mutáns alvonalat és vad típusú növényt használva széleskörű fenotípusos elemzést végeztünk 23 féle táptalajon. A növények nem mutattak a normálistól eltérő morfológiát. A fényben alap MSAR táptalajon nevelt növények levelein kevesebb trichoma található, és azok is deformáltak a vad típusú növényhez képest. A T-DNS inszert és a trichoma mutáció kapcsolatának tanulmányozása még folyamatban van.

Az *At1g17840* gén transzkripció szabályozásának és promóter analízisének céljából két génspecifikus oligó segítségével PCR alkalmazásával vad típusú genomikus növényi DNS-ből felamplifikáltuk a gén 1200 bázispár hosszú promóter szakaszát, és beépítettük pBinLUC+ promóter tesztelő vektorba. *N. benthamiana* tranziens expressziós rendszerben igazoltuk, hogy a promóter-reporter génkonstrukció funkcióképes. *Agrobacterium* transzformációval génmódosított *Arabidopsis* növényvonalakat hoztunk létre az általunk előállított vektor segítségével. A stabil transzformáns *A. thaliana* növények az eredeti L213 vonalhoz hasonló, de annál erősebb biolumineszcenciát és ABA indukciót mutatnak. A promóter részletesebb analízise folyamatban van.

GENETIKA

Ekdizonhiány vizsgálata *Drosophila melanogaster*ben

Hargitai Balázs

V. évf. biológus

SZTE TTK, Genetikai és Molekuláris Biológiai Tanszék

témavezető: Dr. Maróy Péter

Az ekdizon, más néven vedlési hormon a rovarok egyedfejlődésének egyik legfontosabb szabályozó eleme. Ennek a szteroid hormonnak kiemelt szerepe van a lárvális vedlések kiváltásában, de hatása nélkülözhetetlen a lárv állapot végén lezajló bábozódáshoz, illetve metamorfózishoz is.

Kísérleteink alapjául *ecetmuslicában* (*Drosophila melanogaster*) kialakított mesterséges gén (*UAS-mmp*) szolgált. A vizsgált konstrukcióban molekuláris genetikai módszerrel (*P206-Gal4*) kiváltott membrán-metalloproteáz (*mmp2*) ektopikus enzimaktivitás következtében az állatok gyűrűmirigye a lárvális egyedfejlődés egy meghatározott szakaszában felszívódik. Mivel a *Drosophila* lárvákban az ekdizon termelését a gyűrűmirigy végzi, a szerv hiányában leáll a hormon termelése, ami jelentős fejlődésbiológiai következményekkel jár.

Gyűrűmirigy-specifikus zöld fluoreszcens fehérje aktivitás vizsgálatával tisztáztam, hogy a *P206-Gal4 X Uas-mmp* törzsek keresztezéséből származó utódokban valóban felszívódik a gyűrűmirigy a harmadik lárvális stádium elejére.

A vedlési hormon kimutatását Radio Immuno Assay (RIA) módszerrel valósítottam meg. Ennek eredményeiből látszik, hogy a vad típushoz képest a mindkét transzgént hordozó lárvák ekdizontartalma drasztikusan lecsökken. A lárvális fejlődés egy meghatározott szakaszától, a gyűrűmirigy szétesését követően ezekben az állatokban kimutathatatlanul alacsonyra válik a vedlési hormon szintje. Az ekdizon titerértékek lecsökkenése azt jelzi, hogy a lárvában egyedül a gyűrűmirigy tehető felelőssé a hormon termeléséért. Ezt az igazolja, hogy egyedül ez a szerv károsodott a specifikus membrán-metalloproteáz aktivitás miatt és, hogy máshonnan származtatható ekdizontermelést nem detektált a RIA.

Az ekdizonmentes lárvák nem képesek a bebábozódásra, noha a lárvális fejlődésben nem mutatnak különösebb elmaradást a vad típusú példányokhoz képest. A táplálékkal bejuttatott ekdizon hatására azonban végbemegy a bebábozódás. A menekítés arra enged következtetni, hogy egyedül ez a hormon felelős az ezekben a lárvákban lejátszódó fejlődésbiológiai defektusért. Ezzel a kísérlettel kizárhattam azt a feltételezést is, hogy valamely más, gyűrűmirigyben termelődő anyag okozná a változásokat, hiszen az ekdizon pótlása hozta helyre a fejlődési rendellenességet.

GENET 3

Ivarsejt-kialakulásában szerepet játszó gének vizsgálata *Drosophila melanogaster*-ben

Henn László
V. évf. biológus
SZTE TTK, ¹MTA SZBK Genetikai Intézet, ²SZTE TTK Genetikai és Molekuláris Biológiai Tanszék
témavezető: Dr. Vilmos Péter¹, Dr. Maróy Péter², Dr. Erdélyi Miklós¹

Az *Drosophila melanogaster* kiváló vizsgálati modellje az embrionális ivarsejt-kialakulás és fejlődés tanulmányozásának. Mint a legtöbb eukarióta élőlény esetében, a *Drosophila* embrióban is hamar elkülönülnek a testi- és ivarsejtek. Az ivarsejtek csoportot alkotnak az embrió poszterior pólusán, majd szigorúan szabályozott vándorlás és sejt-sejt kapcsolatok kialakítása során egyesülnek a testi eredetű ivarszerv prekursorokkal kialakítván az embrionális ivarszerveket.

Kutatócsoportunk ezen összetett folyamatokban résztvevő génekkel foglalkozik. Egy korábban végzett, érzékenyített genetikai rendszert (SOT rendszer) használó kísérletsorozat segítségével 26 jelölt gént azonosítottak. Ezen gének mutációi az érzékenyített genetikai rendszerben magas penetranciájú ivarsejthiányos fenotípust okoznak. Feladatomban az volt, hogy e jelölt gének közül háromról (*Malic enzyme*, *Semaphorin 5c*, *Tenascin major*) eldöntsem, hogy valóban részt vesznek-e az embrionális ivari folyamatokban.

Munkám során klasszikus genetikai (tesztkeresztezés, fenotípusvizsgálat), molekuláris biológiai (próbakészítés *in situ* hibridizációhoz, ivarsejt-vándorlás nyomonkövetése) bioinformatikai (fehérje kölcsönhatásban résztvevő partnerek keresése, fehérje homológia vizsgálat) módszereket alkalmaztam.

Független allélek fenotípus vizsgálatával bebizonyosodott, hogy a zsírsavszintézisben résztvevő *Malic enzyme* és az eddig ismeretlen funkciójú *Semaphorin 5c* szerepet játszik az embrionális ivarsejtképzés folyamataiban, feltehetően az ivarsejt-vándorlásban vesznek részt. Fehérje kölcsönható partnerek keresésével és ezt kiegészítő fenotípus-vizsgálattal azonosítottam e folyamatok ezidáig ismeretlen tagját, a CG32206 gént, melynek génterméke a *Semaphorin 5c*-vel mutat fehérje-kölcsönhatást. A késői pair-rule gén, a *Tenascin major* fenotípus vizsgálata nem adott pozitív eredményt, azonban bioinformatikai analízisek eredménye alapján kapcsolatba hozható az embrionális ivari folyamatokkal, és elképzelhető, hogy a *Semaphorin 5c* és CG32206 génekkel van genetikai kölcsönhatásban.

Továbbiakban olyan kísérleteket szeretnék elvégezni, melyek a vizsgált gének funkcióinak megértését segítik: *Semaphorin 5c* és CG32206 DNS-próbákkal végzek *in situ* hibridizációt; ivarsejthiányos fenotípust mutató mutánsok embrionális ivarsejt-vándorlását követem nyomon ivarsejtspecifikus β -galaktozidáz aktivitás és Vasa ellenanyag-jelölés segítségével.

GENET 4

Az MLH1 és MSH2 hibajavító gének megváltozásai magyarországi HNPCC családokban

Kovács Marietta Éva
V. évf. biológus
ELTE TTK, Országos Onkológiai Intézet
témavezető: Dr. Oláh Edit

A vastagbélrák világszerte a második leggyakrabban előforduló daganatos megbetegedés, amelynek 75-80%-át a sporadikus (szórvány) esetek teszik ki. A fennmaradó 20-25%-ot a családi halmozódású daganatok jelentik, amelyek között több családi rákszindróma is lehet a rák kialakulásának oka. Legtöbbször a HNPCC (*hereditary nonpolyposis colorectal cancer* – örökletes nem-polipózus vastagbélrák) szindróma felelős az örökletes vastagbél-daganatok megjelenéséért. Ezen szindróma kialakulásáért a DNS hibás bázispárosodását javító rendszer, a *mismatch-repair* rendszer (tagjai: MLH1, MSH2, MSH3, MSH6, PMS1, PMS2) öröklődő hibái tehetők felelőssé. Az összes HNPCC-s esetet okozó csírvonalas mutáció megközelítően 90%-át két gén, az MLH1 (hMLH1, *E. coli* MutL homológ) és az MSH2 (hMSH2, *E. coli* MutS homológ) meghibásodása okozza, körülbelül azonos mértékben. Magyarországon még nem ismert, hogy a HNPCC milyen arányt képvisel az összes családi halmozódású vastagbélrákos eset között, mint ahogyan az sem, hogy az MLH1 és MSH2 gének öröklődő hibái (csírvonalas mutációi) mennyiben járulnak hozzá a kialakulásához. Vizsgálatunk célja az volt, hogy feltérképezzük az MLH1 és MSH2 gének részvételét a hazai HNPCC-s esetek kialakulásában. Ehhez az Osztályon folyó genetikai tanácsadáson megjelent és a vizsgálatba beleegyező 42 HNPCC-s család tagjainak vérmintáiból DNS-t nyertünk ki, majd két módszerrel folytattuk a gének elemzését. Az egyik módszer a gének kópiaszámában történő változásokat mutatja ki, a másik megközelítés a már bevált, nukleotid-szintű változásokat megjelenítő PCR alapú HDA/SSCP analízis, és az erre épülő direkt szekvenálás volt. A két módszerrel együttesen a 42 családból 17 esetben (44%) mutattunk ki a két gén valamelyikét inaktíváló, a HNPCC-s fenotípushoz egyértelműen kapcsolható mutációt, ennek 24%-a a kópiaszámában bekövetkezett változás volt. Az MSH2 8, míg az MLH1 9 esetben volt érintett, a patogén szekvenciaváltozások 47%-át új, világszerte elsőként megfigyelt egyedi mutációnak találtuk, forró pont egyik génben sem volt. A fentiekben kívül mindkét génben több bizonytalan hatású variáns és polimorfizmus is meghatározottunk. Ezek karakterizálása, a genotípus-fenotípus összefüggések meghatározása, valamint egyéb hajlamosító gének tanulmányozása folyamatban van. Megállapítható, hogy először került sor hazai HNPCC családok azonosítására és mutációs spektrumuk meghatározására. A kutatásokat az OM Széchenyi NKFP 1/48/2001 és OTKA T-046570 támogatásával végeztük.

GENET 5

Lisztharmat és peronoszpóra rezisztenciával kapcsolt RAPD markerek jellemzése

Kuczog Anett
IV. évf. biológus
PTE TTK Genetikai és Molekuláris Biológiai Tanszék
témavezető: Dr. Putnoky Péter

A szőlő jelentős mikrobiális betegségei a lisztharmat és a peronoszpóra, amelyek ellen hosszú idők óta vegyszeres védekezést kell folytatni. A molekuláris biológia fejlődése ennek a területnek is segítséget hozott. A természetes rezisztenciagének a hozzájuk kapcsolódó DNS-markerek megkeresésével térképezhetők és izolálhatók. Munkánkkal a szőlőnemesítők számára szeretnénk segítséget nyújtani, a rezisztenciagénekhez kapcsolt DNS-markerek azonosítása révén.

Vizsgálatainkat egy *Muscadinia* x *V. vinifera* x *Franko-amerikai* származású hibridcsaládon végeztük. A családot mesterséges és természetes fertőzéssel teszteltük mindkét kórokozóra. Az így jellemzett utódokkal kezdtük el a munkát.

A növények leveleiből DNS-t izoláltunk, majd dekamer primerek segítségével RAPD (random amplifikált polimorf DNS) elemzést végeztünk. A szülőkön tesztelve a primereket arra a következtetésre jutottunk, hogy azok nagy része megfelelően működik, és a legtöbb RAPD kísérlet eltérő mintázatot eredményez. Ezek után csoport szegregációs analízis módszerét alkalmaztuk. Először mindkét betegséggel szemben ellenálló (L1P1), illetve szenzitív (L4P5) csoportokat alakítottunk ki az egyedekből nyert DNS felhasználásával, és ezeken teszteltük a szülők esetében különbségeket eredményező primereket. Eddig mintegy 300 primerrel végeztük el ezt a kísérletet. A csoportok között eltérő mintázatot mutató primerekkel, ahol a polimorfizmus megjelenése ez egyik rezisztenciagénnel való kapcsoltságot jelez, az egyedszintű tesztelést is elvégeztük (120 egyed).

Eddig három olyan polimorfizmust találtunk, ahol egyed szintű vizsgálattal igazolni lehetett a kapcsoltságot. Két, lisztharmat rezisztenciához kötődő RAPD markerről megállapítottuk, hogy hozzávetőlegesen 1 centimorgan távolságra lehetnek a rezisztenciagéntől, ezért elhatároztuk, hogy szekvencia szinten jellemzett (SCAR) markert fejlesztünk ki belőlük. Az egyik marker esetében már izoláltuk a polimorfizmust mutató DNS-szakaszt és meghatároztuk bázissorrendjét. Ennek ismeretében olyan specifikus primerpárt tervezhattunk, amelynek segítségével megvalósítható a markerhez kapcsolt szelekció a nemesítési munkában.

Folytatjuk a RAPD markerek keresésére irányuló munkánkat, amelynek célja a lisztharmat vagy peronoszpóra rezisztenciagén(ek)hez szorosan kapcsolt több DNS-marker azonosítása, jellemzése. Ezzel nemcsak a klasszikus nemesítő munkát könnyítjük meg, hanem segítjük a gének izolálását célzó kísérleteket is.

GENET 6

A diploid lucerna törpeségéért felelős gén izolálásában elért eredmények

Saskői Anikó
V. évf. biológus
ELTE TTK, Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont
témavezető: Dr. Kiss György Botond

Előzetes térképezési kísérletek alapján a diploid *Medicago sativa* törpe fenotípusának lókusza a kettes kapcsoltsági csoport (LG2) egyik végére térképeződik szorosan kapcsoltan egy lisztharmat rezisztens fenotípussal (Kiss et al., 1993, Kaló et al., 2000). Irodalmi adatok alapján a két fenotípusért egy gén vagy két szorosan kapcsolt gén lehet a felelős. Mi az egyszerűbben és megbízhatóbban vizsgálható törpe fenotípusért felelős gén izolálását tűztük ki célként azzal érvelve, hogy ennek segítségével később a lisztharmat rezisztenciáért felelős gén is azonosíthatóvá válhat.

A törpe növények az elvégzett tesztünk alapján exogén gibberellin hatására a vad típushoz hasonló növekedést mutattak, tehát feltételezhető, hogy a fenotípust a bioaktív gibberellinek bioszintézisében résztvevő egyik enzim génjének mutációja okozza.

A gén izolálásához kétféle megközelítést használtunk. A nagy egyedszámú térképező populáció segítségével elkészített részletes géntérkép alapján pontosan lokalizáltuk a gént. A legközelebbi határmarkerektől megkezdtük a genomsétát, a régiót lefedő, átfedő inszertű BAC klónokból álló kontig építését, ill. ezen BAC klónok szekvenciájának analízisével jelölt gének keresését.

Párhuzamosan mindezzel vizsgáltuk a hasonló fenotípust okozó géneket, így a *Pisum sativum*-ban a bioaktív gibberellin bioszintézisnek terminális lépését katalizáló 3- β -hidroxiláz enzim génjét. Korábbi térképösszehasonlító vizsgálatok alapján a borsó hármass kapcsoltsági csoportjának e gént tartalmazó szakasza génsorrendjében nagy hasonlóságot mutat a lucerna tanulmányozott régiójával. Megállapítottuk, hogy a *M. sativa* ortológ gén koszegregál a törpe fenotípussal, és az általunk épített kontigban megtalálható. A törpe növények alléljában egy konzervált helyen aminosavcsere található, feltételezhetően ez okozta a mutáns fenotípust.

Feltevésünk igazolására komplementációs tesztet tervezünk, melynek során a vad típusú gént *Agrobacterium tumefaciens* transzformációval szeretnénk bejuttatni a mutáns növényekbe.

Őssejtek DNS reparációs képességének vizsgálata Comet Assay-vel

Szécsényi Anita
IV. évf. biológus
SZTE TTK, MTA SZBK Genetikai Intézet
témavezető: Dr. Raskó István

Napjainkban az őssejtkutatás egyre inkább előtérbe kerülő téma. Ahhoz, hogy ezek a sejtek gyógyászati célokra alkalmassá váljanak, elengedhetetlen, hogy genomi integritásukat, reparációs hatékonyságukat ismerjük. A szakirodalomban főleg a reparációs rendszerek együttes működését jellemezték, viszont nagyon kevés olyan adat van, ahol részleteiben is vizsgálták az egyes rendszereket.

Kutatásaink célja az UV által indukált DNS károsodások kijavítását végző Nukleotid Excíziós Reparációs Rendszer (NER) működésének részletes analízise. A NER első lépésének, a károsodott DNS szakasz kivágásának sebességét vizsgáltuk három különböző sejtvonalban: egér embrionális őssejtekben (mES), egér embrionális fibroblasztokban (mEF) és embrionális teratokarcinóma sejtekben (mEC) különböző UV-dózisokat alkalmazva. A NER végső lépésének, a károsodott DNS szál feltöltésének hatékonyságát szintén mindhárom sejtvonalban meghatároztuk.

Kísérleteinket alkalikus Comet Assay módszerrel végeztük, mely az „egy sejt gélelektroforézis” technika továbbfejlesztett változata, alkalmas az UV-sugárzás hatására keletkező ciklobutan pirimidin dimerek és (6-4) fototermekek helyén kialakuló DNS egyesszalú törések és lúg-labilis helyek detektálására.

Az általunk használt módszer alapján nem találtunk lényeges eltérést a NER működésének hatékonyságában a három sejtvonal vonatkozásában. Egyedüli különbség az mES és a mEC sejtek között a DNS károsodások helyén történő bevágások kialakításának sebességében mutatkozott. Mind alacsony, mind magas UV-dózis esetén az mEC sejtek incíziós rátája magasabb volt, mint a másik két sejtvonalban.

Gímszarvas agancsfejlődésében megnyilvánuló gének azonosítása

Sziráki Szabolcs
V. évf. biológus
ELTE TTK, Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont Alkalmazott Fejlődésgenetikai és Génszabályozási Csoport
témavezetők: Dr. Orosz László, Dr. Papp Péter

Az Alkalmazott Fejlődésgenetikai és Génszabályozási Csoport az agancsban expresszálandó géneknek a vizsgálatát és azonosítását tűzte ki célul.

A vizsgálati minta gímszarvas agancsból származik. A gímszarvas agancs csontfejlődése az állatvilágban megfigyelt egyik legintenzívebb szövetgyarapodás. A csontfejlődés genetikai háttere csak részben tisztázott folyamat, az agancs fejlődésének teljes felderítésétől ugyancsak távol vagyunk még.

Az agancs fejlődése szövettanilag a csöves csontok enchondrális csontosodásával mutat hasonlóságot. Valószínűleg az agancs és a vázcsontok morfogenezise azonos, de legalábbis igen hasonló szignál transzdukciós útvonalon történik. Az agancsfejlődés így nem csak az agancs, hanem a vázcsontok fejlődéséről is információt szolgáltat. A vizsgálatok eredményei egyrészt a humán gyógyászatban, másrészt a vadgazdálkodás terén a szarvasok nemesítésében hasznosulhatnak.

A szarvas modellállattá válhat, mivel agancsa a robosztus fejlődés vizsgálatára alkalmas és csontfejlődési modellként szolgálhat, hiszen könnyű, évről-évre ismétlődő mintavételi lehetőséget biztosít. Mivel a vázcsontokban, a szarvasagancs mineralizációja következtében fellépő fiziológiás csonttrikulás regenerációját figyelhetjük meg, bontásáért és visszapótlásáért felelős gének azonosítása révén, akár az oszteoporózis gyógyítására alkalmas eljárás kidolgozására is mód nyílhat.

Az agancs mezenchima, előporc, porc szöveteinek génexpressziós mintázatát hasonlítottuk össze. A közöttük lévő különbségek segítségével, az agancsszövetek differenciálódásában résztvevő géneket azonosíthatjuk, míg az agancsszöveteknek a vázszövetekkel való összehasonlításával az agancsban specifikusan megnyilvánuló gének azonosítására nyílik lehetőség.

Az összehasonlítás során AFLP alapú differential display-t, valamint egy saját fejlesztésű szarvasagancs cDNS-chipet használtunk; az expressziós különbségeket reprezentáló cDNS fragmentumokkal az egyes szövetekből létrehozott cDNS könyvtárakat szűrtük. Northern hibridizációval bizonyítottuk, hogy a kiválasztott klónok a vizsgált szövetekben differenciáltan expresszálandók.

HIDRO1-1

A Dráva holtágainak védelmét szolgáló mederállapot-felvételezések

Ablonczy Etelka

V. évf. biológia

PTE TTK Általános és Alkalmazott Ökológiai Tanszék

témavezető: Dr. Majer József

A Duna-Dráva Nemzeti Park területén, a Dráván 20 nagyobb mellék-, 18 holtág és számos kisebb víztér van. Folytatjuk a 2001-ben megkezdett holt- és mellékágak meder morfológiája, a feltöltődése 2 és 3 dimenziós radarral való felmérését, valamint benövényesedésük változásának feltérképezését. Az adatok birtokában tervezhetővé válik a holt- és mellékágak kezelése. A munkálatok magukba foglalták a keresztaszvénnyek felvételezését, 80 cm mélységtől fenékradarral, amit méteres szakaszonként a két part között kifeszített, méterenként megjelölt vezetőkötél mentén mértünk. A távolság mérés Rangefinder Yardage Pro 500-as lézertáv mérővel történt. A helyszín földrajzi koordinátáit GPS készülékkel határoztuk meg. A holtágaknál viszonyítási alapul egy fix szintet jelöltünk meg, amihez viszonyítva a későbbi adatokat, a mederváltozások (feltöltődés, mélyülés) pontosan nyomon követhetők. A mellékágaknál rögzítettük a folyó aznapi hivatalos vízállását, illetve a vízmérce esetleges meglétekor ehhez viszonyítottunk. 2001-ben elkészítettük a Dráva egy holtága (Kisinci-tó) és mellékágai (1. Örtilosí, 2. Bélavári, 3. Vízvári alsó, 4. Vízvári felső, 5. Majláthpusztai, 6. Kisinci mellékág, 7. Zaláta holtág, 8. Nagybók-holtág) felmérését. A holtágak nagyon változatosak. Vannak olyanok, amelyeknek pusztulása előrehaladott mértékű, vízellátásuk nem megoldott, mások még rehabilitálhatók. A mellékágak többnyire keresztágakkal felosztottak, így a víztest csak magas vízállásnál összefüggő. Vannak gyorsan feliszapolódó és vannak mélyülő szakaszok is. A további vizsgálataink célja a holtág rehabilitációt megalapozó adatok gyűjtése.

HIDRO1-2

A Lónyay-főcsatorna és vízgyűjtő területe ökológiai állapotának értékelése víz és üledék vizsgálatok alapján

Balogh Edina

V. évf. környezettudomány

DE TTK Hidrobiológia Tanszék

témavezető: Dr. Nagy Sándor Alex, Dr. Dévai György

A Debreceni Egyetem Hidrobiológiai tanszéke további négy intézménnyel együttműködve, „A Tisza és a Felső-Tisza-vidék hidroökológiája” című pályázat keretében a vízszennyezések átfogó ökológiai hatáselemzésének tudományos programját valósítja meg. Munkámban e program 17-20-as részfeladatának előkészítéséről, ill. első eredményeiről számolok be.

A vízszennyezések hatásterületének felmérésére mintaterületként a Felső-Tisza-vidéken található Lónyay-főcsatorna vízgyűjtő területét választottuk ki. A kiválasztás fontos indoka az volt, hogy a főcsatorna teljes vízgyűjtő területe hazánkban található, s így a terhelések a keletkezés helyétől pontosan nyomon követhetők.

A terepbejárások tapasztalatai, valamint a rendelkezésre álló térképanyag információi alapján összesen 30 mintavételi és mérési helyet jelöltünk ki. A kijelölt mintavételi helyeken megtörténtek a hordozható multiparaméteres vízminőség-monitorozó rendszerrel az első helyszíni, szkennelő jellegű mérések.

A minták feldolgozása a NYÍRSÉGVÍZ Rt. Központi laboratóriumában történt.

A mérési eredményeket az ökológiai vízminősítési (Dévai et al 1999) rendszer által létrehozott kategóriákba soroltam be. A területről általánosan elmondható, hogy súlyos vízhiánnyal küzd, mely abban mutatkozott meg, hogy a kijelölt 30 mintavételi hely közül a felmérés időszakában 5 helyen nem volt víz a mederben. A vízhiányról tanúskodik az a tény is, hogy a 25 hely közül, ahol sikerült mintát venni, a csekély vízmélység miatt csak 5 esetben lehetett a függélyben mérni.

A Tiszát 2000 telén ért cianid, s az azt követő nehézfém-szennyezések rámutattak víztereink élővilágának sérülékenységre, kiszolgáltatott helyzetére (Nagy et al 2002). Világosan kell azonban látnunk, hogy természetes vizeink élővilágát nem csupán ilyen heveny és kizárólag külföldről érkező mérgezések fenyegetik, hanem hosszan tartó folyamatos terhelést jelentenek a hazai szennyvíztisztítók tisztított szennyvizei, s a vízgyűjtőn elhelyezkedő mezőgazdasági, vagy ipari területekről a csapadékvízzel bejutó szennyezések is.

HIDRO1-3

A *Peridinium cinctum* (Dinophyta) cisztaképzését befolyásoló tényezők

Béres Viktória
V. évf. biológus- ökológus
DE TTK Növénytani Tanszék
témavezető: Dr. Grigorszky István, Dr. Borbély György

Kísérleteink során arra a kérdésre kerestük a választ, hogy egyes paraméterek (nitrogén-, és foszforhiány, hőmérsékletváltozás) milyen mértékben befolyásolják a *Peridinium cinctum* (Stein) cisztaképzését, és ezen keresztül hogyan hathat a faj tér-, és időbeli dinamizmusára. Megállapítható, hogy a nitrogén a legfontosabb cisztaképzést befolyásoló faktor, hiányában 10-65%-os cisztaképzés tapasztalható a hőmérséklettől függően. A cisztaképzésben a hőmérsékletnek másodlagos a jelentősége; s kísérleteink igazolták, hogy az adott faj szűk hőtoleranciájú. Ezzel szemben a *P. cinctum* esetén bebizonyosodott, hogy a foszfort vélhetőleg képes raktározni, ami lehetővé teszi számára, hogy több generáción keresztül kibírja a hiányát.

Összefoglalva az eddigieket megállapítható, hogy a nitrogénhiány a legjelentősebb tényező a cisztaképzés szempontjából; azonban a faj szűk hőtoleranciája miatt a hőmérséklet is fontos szerepet játszik a cisztaképzésben.

HIDRO1-4

Izotópanalitikai vizsgálatok a Lónyay-főcsatornán

Elek Ágnes
V. évf. biológus-ökológus
DE TTK Hidrobiológia Tanszék
témavezető: Dr. Nagy Sándor Alex, Dr. Szántó Zsuzsanna, Dr. Svingor Éva

A Lónyay-főcsatorna vízgyűjtőterületén végeztem izotóp-hidrológiai vizsgálatokat a DE Hidrobiológia Tanszéke által elnyert „A Tisza és a Felső-Tisza-vidék hidroökológiája” című pályázat keretein belül. 17. részfeladatának célja a vízszennyezések hatásának átfogó ökológiai hatáselemzése. Ezen belül feladatom, hogy a beérkezett vízmintákat az ATOMKI Környezetanalitikai Laboratóriumában izotóp-hidrológiai módszerek segítségével vizsgáljam. A módszer lényege, hogy T^3He módszerrel végzett trícium tartalom meghatározásokkal, valamint H/D , $^{18}O/^{16}O$, $^{13}C/^{12}C$ stabilizotóp-arányok mérésével jellemezni lehet bármely víztömeget – a szennyeződések tartalmazókat is – s nyomon lehet követni annak útját mind a talajvízben, mind a felszíni vízfolyásokban.

A területen elhelyezkedő jelentősebb települések (Nyíregyháza, Tiszabercel, Nyírtelek stb.) tisztított szennyvize a Lónyay-főcsatornába kerül, ami tovább szállítja azt egyenesen a Tiszába. Arra voltam kíváncsi, hogy ez a szennyezés milyen mértékben terheli a vízgyűjtőt. A mérések során az alábbi eredmények születtek:

- A Bogdányi-főfolyást egyértelműen mélységi eredetű, idős víz alkotja, és a növényzet az alsóbb rétegekből kap vízutánpótlást.
- A Lónyay-főcsatornán Kemecse után valószínűleg egy talajréteg törése következtében rétegvíz keveredik a vízfolyáshoz, ami részben igazolja a főcsatornán tapasztalt többlet vízhozam eredetét.
- A Lónyay-főcsatorna hiányzó vízhozama származhat a területen található ivóvízkutakból nyert, majd elhasznált ivóvíznek a folyásba történő visszaengedéséből is.
- A Tiszából vett mintában a nagyon negatív ^{18}O izotóparány a Tisza vízgyűjtőterületén esett csapadékkal magyarázható, mivel trícium tartalma a csapadékatlagynak megfelelő.
- A Kótajnál mért magas szerves anyag tartalom részben a növények bomlásából, részben pedig a Nyíregyházáról érkező illegális szennyvízbevezetésből származik.
- A Kemecse és Ibrány közötti pH és vezetőképesség értékeinek emelkedése összefüggésbe hozható azzal, hogy az Érpataki-főfolyás Nyíregyháza tisztított és kommunális szennyvizét szállítja a Lónyay-főcsatornába.

HIDRO1-5

A balatoni zooplankton vertikális szerkezetének napszakos változása

Homonnay Zalán Gábor
IV. évf. biológus
ELTE TTK Mikrobiológiai Tanszék
témavezető: Dr. G.–Tóth László

A tavi zooplankton térbeli szerkezetének vizsgálata a XIX. század második felében kezdődött, azóta ismert, hogy a planktonikus szervezetek eloszlása egyenetlen, és napszakosan változik. Utóbbi jelenség a napi vertikális vándorlás. Ennek formája fajonként, fejlődési stádiumonként, és tavanként eltérő lehet. A jelenség a ragadozókat elkerülő, adaptív magatartás. A mozgás legfontosabb szabályozója a fény, de egyes esetekben kimutatható, hogy az oxigénszint változása, vagy a víz hőmérséklete befolyásolja a folyamatot.

Mivel részletes, egész napos vizsgálatból származó balatoni adatok eddig kettő fajra voltak ismertek, célul tűztük ki a tó planktonjában élő főbb fajok és taxonok vertikális eloszlásának vizsgálatát. Emellett fontos kérdésként merült fel, hogy a 2003. évi alacsony vízállás mennyire befolyásolta a szervezetek vertikális vándorlását.

A mintavételek 2003. augusztus 4-5-én és 25-26-án, 24 órán keresztül, 8-8 alkalommal a Tihany előtti nyíltvíz öt rétegéből. Ugyanekkor mélységenként mértük a víz hőmérsékletét, pH értékét, konduktanciáját, oldott oxigén-tartalmát és a Secchi-féle átlátszóságot.

A Cladocera rákok (*Daphnia*, *Diaphanosoma* genusok) jellegzetes normál vándorlást mutattak, tehát nappal a mélyebb rétegekbe húzódtak, és éjszaka minden vízrétegben egyenletesen helyezkedtek el. A Copepoda rákok adult és copepodit alakjai kevésbé jellegzetes normál vándorlást végeztek, legnagyobb egyedszámuk a középső és mély rétegekben jelentkezett, éjszakára vertikális eloszlásuk egyenetlensé vált. A naupliusok nappal jelentek meg felszínközépen, vagyis fordított vándorlók, elhelyezkedésüket a déli órák magas felszíni vízhőmérséklete is befolyásolta. A kerekférgek és a vándorkagyló (*Dreissena polymorpha*) veligera lárvái élénk napi vándorlást végeztek, de mozgásuk nem tipikus, mivel nem képesek olyan mértékben függetleníteni magukat a vízáramlásoktól, mint a rákok. A kapott eredmények az irodalmi adatokkal összecsengenek, de azokat több ponton kiegészítik.

A balatoni zooplankton egészére jellemző, hogy az elterjedés alsó határa egész nap az aljzat volt, csak a felső határ és az eloszlás profílija változott napszakosan. A legtöbb szervezet a középső és mélyebb rétegeket lakja, a vízmélység csökkenése miatt életterük beszűkült, ennek következtében a két mintavételi időszak között jelentősen visszaesett egyedsűrűségük. A 2003-ban tapasztalt alacsony vízállás tehát közvetlenül hatott a planktonszervezetek mennyiségére, ezen keresztül a tó egész táplálékhálózatára.

HIDRO1-6

A magyarországi vízfolyások tipológiai csoportosítása és azok fizikai-kémiai paraméterei

Kovács Zsófia
V.évf. környezettudomány
VE Limnológia Tanszék
témavezető: Dr. Padisák Judit

Az Európai Unió hosszú távú programjának a Víz Keretirányelvnek (VKI) célja, hogy legkésőbb 2015-re a felszíni vizek jó ökológiai és kémiai állapotúak legyenek. A VKI bevezetésének alapja a felszíni vizek estében a víztest tipológia megalkotása. A tipológia megléte alapfeltétel, mert erre épül a víztest kijelölés, a referencia állapot meghatározás, a minősítés és a monitorozás is.

Munkánk kiinduló pontja volt 22 vízfolyás (Szalajka-patak, Eger-patak, Hór-patak, Garadna-patak, Cuha-patak, Szerencs-patak, Tolcsva-patak, Csenkő(Ósva)-patak, Galyavári-patak, Csörgő-patak, Málna-patak, Pokol-völgyi-patak, Torna-patak, Bódvaj, Kondoros-Tócó-Köcsely, Folyás-ér, Félegyházai-vízfolyás, Széksóstói-főcsatorna, Vajás-fok, Dió-ér) kiválasztása a tipológia javasolt elemei (domborzati térkép, hidrokekémiai paraméterek) alapján.

Munkánk fő célkitűzése, hogy a tipológia hidrokekémiai elemeit a főionok alapján igazoljuk és felmérjük a patakokat ért esetleges terheléseket. Az említett patakokon a forrásnál, a középső szakasznál, a torkolatnál vettünk mintát a további analitikai paraméterek [K^+ , PO_4^{3-} , NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^- , TP, m-lúgosság, p-lúgosság, SO_4^{2-} , Cl⁻, Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+] vizsgálatához.

A vizsgált 22 patakot 9 típusba tudtuk besorolni. A helyszíni tapasztalatok a legtöbb esetben a tipológiai besorolást igazolták, bár néhány patakban a Tolcsva-, a Szerencs-, a Hór-, és az Eger-patakban a mederanyag nem felelt meg az irodalom szerinti tipológiai besorolásnak, így eredményeink azt mutatják, hogy a tipológia további finomítása és tökéletesítése szükséges.

A főionok cluster-analízise alátámasztja a hidrokekémiai megkülönböztetést, így a tipológiában meszesként és szilikátosként megjelölt vizek egymástól élesen különböznek. A N és P formák alapján történt osztályozás nyilvánvalóan nem illeszkedik egyetlen tipológiai paraméterhez sem, kizárólag a szennyezett helyeket különíti el.

A patakok vízhőmérséklete az évszaknak megfelelő volt. A Hór-patak közép szakaszán mért 21.3°C hőmérséklet azonban kiugróan nagy a várt értékhez képest, melynek oka a közelben lévő bogácsi termásvíz.

A patakok pH-ja a folyás irány mentén növekedett, de a Hór-pataknál a folyásirány a savas, kénes termásvíznek tulajdoníthatón csökkent. Így ez a patak saját típusától természetes hidrokeológiai hatások következtében lényegesen eltér, s emiatt nem tipizálható, csak önmaga referenciájaként kezelhető. Így javasolnánk a tipológiába egy új kategóriát az „egyedi sajátosságú folyóvizek”-kategóriáját.

A Tiszadobi Malom - Tisza Holtág Úszólápjának Algaflórája

Krasznai Enikő
V. évf. biológus szak
DE TTK Növénytani Tanszék
témavezetők: Dr. Borics Gábor, Dr. Borbély György

2004 nyarán részletes algológiai vizsgálatokat végeztem a Tiszadobi Malom - Tisza holtág úszólápján. Választ kerestem arra, hogy a lápi szukcesszió során kialakuló, a makrofitonok tekintetében megnyilvánuló látványos különbségek milyen mértékben jelentkeznek a lápi növényzet által elkülönített kis vízterek mikroflórájában.

A Malom-Tiszában megfigyelt fajok többségét mezotróf, ill. mezo-eutróf, alkalikus vizekhez kötődőnek tartja az irodalom. Ez a megfigyelés összhangban van a vízkémiai eredményekkel, hiszen a lóp vízének kémhatása is enyhén alkalikus volt.

A 250 megfigyelt algataxon gazdag mikroflóráról árulkodik. Különösen jelentős a *Desmidiaceae* flórája (80 taxon). A flóra a nagyobb taxonok részesezését tekintve is teljesen eltér a hazai lápokon megfigyelt arányoktól. Az ostoros szervezetek száma rendkívül alacsony. Említést érdemel a Magyarországon kifejezetten ritka *Peridinium gatunense*, mely domináns eleme volt a júniusi planktonnak.

A júniusban vett belső láptavi mintában a *Peridinium gatunense* és a *Woronichinia naegeliana* voltak az uralkodók, ami az irodalom szerint a rétegzett oligo- ill. mezotróf tavak nyári epilimnionjára jellemző.

Eredményeim alapján elmondható, hogy az a mozaikosság, amely a makrofitonok tekintetében nyilvánvaló volt a bevonatok mikroflórájának összetételében alig volt megfigyelhető.

A fitoplankton összetételében tapasztalt különbségek az első mintavétel idején látványosak voltak. Az ostoros szervezetek aránya a lenitikus vizekben jelentős volt, s ez összhangban van a más lápokon végzett megfigyelésekkel. A nyár végére a különbségek elmosódtak és a lóp nyíltvízi részén is olyan összetételű Cyanobaktérium plankton volt megfigyelhető, mint amilyen a holtágakra általában jellemző ebben az időszakban.

Vizsgálatai eredményeim arra engednek következtetni, hogy a holtág nyílt vize nagy térfogatánál fogva erős befolyással van a lóra, annak vízkémiai jellemzőire és élővilágára is. Ennek köszönhető, hogy a Malom-Tisza úszólápjának mikroflórája közelebb áll a dús hínárvegetációval rendelkező, alkalikus állóvizeinkéhez, mint lópjaink többségének algaflórájához. A holtág erőteljes befolyása mindaddig fenn fog állni, amíg a lóp (egykori folyásirány szerinti) alsó vége be nem zárul, s a növényzet kellőképp el nem szigeteli a lópot a Malom-Tisza nyíltvízi részétől.

Biológiai vízminősítés a Reiher-patakon

Tóth Ildikó
IV. évf. környezetmérnök
NYME EMK Erdő- és Faanyagvédelmi Intézet, Termőhelyismerettani Tanszék
témavezetők: Dr. Traser György, Dr. Heil Bálint

A dolgozat azt vizsgálja, hogy hogyan változik a Reiher-patak vízminősége annak következtében, hogy más-más területen folyik keresztül. A változások kimutatására biológiai vízminősítést használtunk, de mértük a fizikai és kémiai paramétereket is.

Hat mintavételi helyet jelöltünk ki: SLW, SLN, SLP, SLZ, SLR és SLB. Ezen helyeket megpróbáltuk úgy kiválasztani, hogy a patak egy-egy jellegzetes szakaszát jelöljék. Összesen három alkalommal gyűjtöttünk mintát: 14.04.2004, 17.05.2004 és 08.06.2004.

A biológiai vízminősítés során mind mennyiségi mind minőségi mintavételezést alkalmaztunk. Az eredmények feldolgozásánál a Csányi-féle MMCP-rendszert alkalmaztuk, illetve számoltuk a diverzitást, a relatív fajgazdagságot és a fajazonosságot. A kémiai vizsgálatok során a hőmérsékletet, a pH-t, az oldott oxigéntartalmat és a vezetőképességet mértük, valamint a fontosabb elemek koncentrációit határoztuk meg.

Eredményeink a következők:

2311 egyedet találtunk. Ebből az SLW helyen 308 (20 családba sorolható); az SLN helyen 595 (30 családba sorolható); az SLP helyen 594 (30 családba sorolható); az SLZ helyen 251 (18 családba sorolható); az SLR helyen 480 (30 családba sorolható); az SLB helyen 74 (19 családba sorolható) fordult elő.

Az SLN, SLP és SLR helyen magas volt a relatív fajgazdagság, ami a gerinctelenek számára kedvező feltételeket jelenti. De az SLZ és SLB helyeken alacsonyabb értékeket kaptunk, ami az ökológiai feltételek megváltozására utal.

A diverzitásból nem tudunk egyértelmű következtetéseket levonni. Az SLB helyen viszonylag magas értéket kaptunk, de ez már egy másik eloszlásra utal.

Az MMCP-rendszer szerint az SLW, SLN, SLP és SLR helyeken kiváló minősítést (I.B, I.A, I.C), míg az SLZ és SLB helyeken a kevésbé szennyezett minősítést (III.A) kaptunk.

A kémiai eredmények alapján a Reiher-patak a I, I-II. vízminőségi osztályba sorolható, a mintavételi helyek között nincs nagy eltérés. Csak az NO₃ és PO₄ -tartalom emelkedik kisebb mértékben a torkolat felé (II. vízminőségi osztály).

A kémiai és a biológiai eredmények közötti különbséget valószínűleg az áramlás megváltozása vagy az üledék összetételének változása vagy más egyéb ökológiai változás okozza. De nem szabad elfelejtenünk azt sem, hogy a biológiai vizsgálat a patak ökológiájának egy átlagos értékét adja, így az sokkal kifejezőbb, míg a kémiai vizsgálatokkal csak a mintavételkor fennálló vízparaméterek mutathatók ki.

HIDRÓ1-9**A Csömöri-patak bioindikációs vizsgálata**

Türei Dénes

junior

Németh László Gimnázium, Budapest

témavezetők: Dr. Kriska György, Obermajer András, Kovács Október

Vizsgálataim célja az volt, hogy általános képet kapjak az Észak-Pest környékén található Csömöri-patak állapotáról, összehasonlítva más hasonló jellegű patakokkal. Ugyanazon a patakon, ugyanabban az időben bioindikációs és kémiai vízminőség vizsgálatot is végeztem, és arra is kíváncsi voltam, hogy a két módszer eredménye hogy viszonyul egymáshoz. Ezen kívül a patak bejárása során megfigyeltem a medrek állapotát, a patakot kísérő növénytársulásokat, szennyező források után kutattam és megmértem az egyes patakok vízhozamát. A Csömöri-patak a közelben található többi patakhoz képest alacsony vízhozamú, hosszát tekintve is kis patak. Csömörnél ered, keresztülfollik a falu lakott területein, majd Budapestig mezőgazdasági területek között halad. A város lakott területeire érve betonozott mederben folytatja útját. Vizsgálataimat 2002 augusztusában Káposztásmegyeren kezdtem. Itt a betonlapokkal csak az alján borított medret felváltja a teljesen betonból készült meder. Minden nap ugyanabban az időpontban vízmintát vettem kémiai vizsgálat céljából, és bioindikációs vizsgálatot végeztem makrogerinctelen fajok alapján. Összehasonlítás céljából más újpesti patakokat is megvizsgáltam illetve a Csömöri-patakot egy másik szakaszán, Rákospalotán a Károlyi S. utca hídjánál is. A kémiai vizsgálatok során a vezetőképességet, keménységet, ammónium-, klorid-, szulfát-, nitrát-, nitrit-, foszfát- és szárazanyag tartalmat vizsgáltam. A patakok újpesti szakaszát teljes hosszában bejártam, és megmértem az egyes patakok vízhozamát. A mérések augusztusban történtek, ilyenkor alacsony szokott lenni a vízállás. A Csömöri-pataknál a Rákospalota fölötti szakaszon előfordult, hogy a mederben nem volt víz. Újpesten szinte mindenhol rendszeresen kaszált gyomtársulások vannak a patakok mentén, a meder pedig mindenhol betonból van. Ahol csak a meder alja van betonlappal burkolva (Csömöri-patak Rákospalotán, Szilas-patak Rákospalotán), ott a parti növényzet kapcsolatban van a vízzel, így előfordulnak üde gyomtársulásokra jellemző vízkedvelő fajok. Közvetlenül a Szilas-patak torkolatánál ártéri ligeterdő található. A bioindikációs vizsgálatok esetében a Csömöri-pataknál szinte mindig „jó minőségű” (II. vízminőségi osztály) lett az eredmény. A Mogyoródi-patakon és a Szilas-patak rákospalotai szakaszán szintén „jó minőségű”(II.) lett az eredmény, a Szilas-patak újpesti, betonozott medrű szakasza „kevésbé szennyezett” (III). A Csömöri-patak fajszáma és egyedsűrűsége egyaránt magasabb volt a többi patakénál. Az egyes fajok jelenléte nem csak a vízminőséget, hanem a meder állapotát is jelzi. Megfigyeléseim szerint fontos, hogy legyenek vízbe lógó növényi részek. Két Csömöri-patakon található szennyező-gyanús befolyásról megpróbáltam kideríteni, hogy pontosan mit és honnan szállítanak a patakba, ez a próbálkozás azonban nem járt sikerrel. A patakon többször is észleltem detergens jelenléte utaló habot, de a laboratórium detergens-teszt hiányában nem tudott kimutatni felületaktív anyagot. A Csömöri-patak kis patak, és a város szélén helyezkedik el, így kisebb mértékben érik szennyező hatások, mint például a Szilas-patakot. A szennyezés fő forrása a mezőgazdaság, de az említett két befolyás és a vízben megjelenő hab aggodalomra okot adó jelek: az ipar és a lakosság szennyező hatásai következtében védelem hiányában a vízfolyás elszennyeződhet, egyes fajok pedig eltűnhetnek.

HIDRÓ1-10**A Gyergyói medence borvízkútjainak tanulmányozása**

Portik Tünde, Nagy Botond

Sövény Elek Szakközépiskola, Gyergyóalfalu

témavezetők: Kiss Arnold, Kiss Lóránd

Gyergyói medence lakosainak többsége nagy intenzitással használja az ásványvizet. Sok családi udvaron, ivóvízi ásatások során bukkantak a borvízforrásokra. Napjainkban több tíz forrás számlálható a Maros menti településen, Gyergyócsomafalván. Az elkövetkező néhány évtizedben jelentős szerepet fog betölteni az „ásványvíz”, a medence embereinek mindennapjaiban. Az állam által biztosított feltételeken túl mindennapi (közéleti) követelmények, fogyasztói igények kell, hogy fellépjenek. Szerintünk szükséges megállapítani, hogy valóban alkalmas-e fogyasztásra a használt ásványvíz, illetve, hogyan lehetne javítani minőségén (ha szükséges).

Tanulmányunkban elemzés alá helyeztünk néhány borvízkút vizét. Összetétel vizsgálat során minőségi szempontból próbáltunk következtetéseket fogalmazni. A borvízben található ionok kimutatása lehetőségeket biztosít, hogy a talajban levő ásványi sók milyenségét meghatározhatjuk. Továbbá, az ásványvíz potabilitásának megállapítása összehasonlítva a standard megengedett értékekkel.

Próbáltunk adatainkból fényt deríteni a források vizeinek milyenségére. Ha a szervezetre tekintve káros komponenseket tartalmaz, azok miből adódtak, vagy adódnak. Illetve feltárni, hogy van-e korreláció a rákos megbetegedések száma és a használt ásványvíz összetétele között.

Analizáltuk azt a helyzetet, hogy a szennyvízhálózat hiánya, mennyire befolyásolja a szennyeződés tartalmának növekedését. A szennyeződések milyen javaslattal és tevékeny módszerekkel lehetne megszüntetni.

HIDRO2-1

A fenékjáró poloska (*Aphelocheirus aestivalis* Fabricius, 1794) térbeli előfordulási sajátosságai egy számára szokatlan élőhelyen

Boda Pál
V. évf. biológus
DE TTK Hidrobiológiai Tanszék
témavezetők: Dr. Dévai György, Dr. Csabai Zoltán

Az *Aphelocheirus aestivalis* az egyetlen vízipoloskafajunk, mely kizárólag az aljzaton ill. annak közelében tartózkodik. Az irodalmi adatok szerint csak mélyebb vízfolyásokban fordulnak elő. Az *Aphelocheirus aestivalis* mennyiségi előfordulási viszonyait feltérképező vizsgálatunk során a mintavételeket a Rakaca középső szakaszán, Rakacaszend térségében végeztük. A patak egészére homokos, apró köves meder jellemző, de található egy 40 méteres szakasz, ahol az aljzat teljesen eltér mind a felette, mind az alatta levő szakaszoktól. A mintavételi hely felső részén a patak kisebb kövekből áll, a középső részen köves-kavicsos, míg az alsó szakaszon kavicsos-murvás-homokos, a víz mélysége 1 és 15 cm között változott. A fenékjáró poloskát a Rakaca mentén csak ezen a helyen találtuk meg, előfordulását más szakaszokon nem regisztráltuk, annak ellenére, hogy korábbi gyűjtéseink alkalmával kifejezetten kerestük. Ilyen típusú aljzatot máshol nem találtunk.

Mintavételeinket a szakasz teljes hosszán a folyásiránnyal szemben haladva 10 darab, 3 mintából álló transzekt mentén végeztük. A mintavételhez 25×25cm oldalhosszúságú Surber mintavevőt használtunk.

A főkomponens analízis alapján elmondható, hogy a minták az aljzattípusoknak megfelelően többé-kevésbé diszkrét csoportokra különíthetők. A halmazokon belül a köztes minták esetében átfedések tapasztalhatók, azonban a tisztán köves-kavicsos aljzat és a szinte teljesen homokos, kavicsot alig tartalmazó szakaszok diszkréten elkülönülnek a köztes mintáktól. Ugyanez látható a clusteranalízis esetében, ahol a köztes mintáktól jól elkülönülnek a két egymástól kifejezetten különböző aljzattípus mintái. A mintavételi helyen a lárvák és a kifejlett egyedek aránya eltérő volt a kavicspad széli és középső részén.

Összegzésként elmondható, hogy az *Aphelocheirus aestivalis* imágói a számukra megfelelő kavicsos aljzattal és nagyobb vízmélységgel jellemezhető mederszakasz sodorvonalában tömegesen fordultak elő. A faj lárvái kiszorultak a kevésbé optimális életfeltételeket biztosító mederszakaszokra, melyek homokos aljzattal és csekély vízmélységgel jellemezhetőek.

HIDRO2-2

A Boroszló-kerti-Holt-Tisza szitakötő-faunájának (Odonata) felmérése

Kézér Krisztina
IV. évf. biológia-környezettan
DE TTK Hidrobiológiai Tanszék
témavezető: Dr. Dévai György

A Boroszló-kerti-Holt-Tisza a Tisza jobb partjának hullámterén, a Beregi-síkon fekszik, s a terület tájképileg legszebb holtmedreink egyike. Az ökológia vízminőség szempontjából is kiemelkedő jelentőségű objektum, hiszen az első teljes körű vizsgálatokhoz és állapotértékelés erre a holtmederre vonatkozóan készült 1997-ben. A szitakötő-fauna átfogó felmérése-néhány korábbi alkalmasszerű célvizsgálat után 2003-ban kezdődött el „A Tisza és a Felső-Tisza-vidék hidroökológiája” című összetételét tekintve a holtmeder nagyon változatos habitású, s így számítani lehetett arra, hogy gazdag és sokszínű szitakötő-fanának ad otthont. Vizsgálataink jelenlegi szakaszában elsősorban arra törekedtünk, hogy a teljes faunaképet felvázoljuk. Ugyanakkor nagy figyelmet fordítottunk arra is, hogy az eltérő hidroökológiai adottságú víztestek közötti különbségeket felderítsük és kimutassuk. A vizsgálat során összesen 298 egyedét gyűjtöttünk, 88 imágót és 210 lárvát. A gyűjtött egyedek összesen 19 fajhoz tartoztak (ez a hazai szitakötő-fauna 29%-a), amiből 9 Zygoptera, 10 pedig Anisoptera. Röviden jellemeztük a vizsgálat során gyűjtött fajokat. Elemeztük a szitakötőfauna időbeli változását a vegetációperióduson keresztül, a fajok általános fenológiai sajátosságaival összehasonlítva. Részletesen jellemeztük a Boroszló-kerti-Holt-Tiszán kijelölt szakaszok, és ezeken keresztül az egész víztér szitakötőfaunáját, a lárvák és az imágók alapján. A 2004-es eredményeket összevetettük az 1997-es, hasonló jellegű felmérés eredményeivel.

HIDRO2-3

A Kiskörei-tározó epifitonjának vizsgálata (2003-2004)

Kosáros Tünde

V. évf. biológus-ökológus

DE TTK Alkalmazott Ökológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Lakatos Gyula., Dr. Szabó Marianne

1973-ban került sor Kiskörén a duzzasztómű átadására és üzembe helyezésére, majd ezt követően a tározó tér kialakítására. A Kiskörei-tározó 127 km²-es területével hazánk második legnagyobb állóvize. A Tisza 404 és 440 fkm közötti hullámterén helyezkedik el. A tározó mai állapotában az állóvizek közé sorolható, sekély tó típusú tározó (Dévai, 1995).

A Debreceni Egyetem TTK, Alkalmazott Ökológiai Tanszéke már több éve tanulmányozza a vízi növények (természetes alzatok) élőbevonatát, középpontba helyezve az emerz zöld nád, a gyékény és a gyakori szubmerz hínár fajok élőbevonatának vizsgálatát. Rögzült életformájuk eredményeként e közösségek anyagforgalmi és energiaáramlási jelentőségük, a vízminőség indikálásában betöltött integrált szerepük alapján a bio-monitorozásban használatosak (Lakatos et al., 1999).

Dolgozatomban a 2003. és a 2004. évi kutatási eredmények összevetését végeztem el. Célul tűztem ki: a mintavételi helyeken található növényzet megismerését, az azonosított növényfajok elemzését (pl. életforma, flóraelem, TVK, W, életmód), az élőbevonat mennyiségi, minőségi változásainak vizsgálatát, helyszíni és laboratóriumi mérések ismertetését, értékelését, valamint az ETS-aktivitás vizsgálatát.

Az élőbevonat szerkezetének és működésének kutatása kiemelkedő jelentőségű, mert felépítése és összetétele jelzi a környezettanilag eltérő élőhelyeket. Jellegzetes minőségi és mennyiségi módosulása, pedig jól indikálja a vízminőségi állapotot és annak változásait. A természetvédelem számára jelzi a természet közelséget ill. a zavart állapot (degradáció) szintjét. Az EU Víz Keretirányelv szempontjából is lényeges és fontos biológiai mutató, mivel az élőbevonat vizsgálatának adatai eredményesen alkalmazhatók az „adott víztest”, ökológiai állapotának feltárásához ill. meghatározásához.

A vízinövény-élőbevonat komplexum vizsgálatát továbbra is fontosnak tartjuk, hogy a funkcionáló Kiskörei-tározó működéséről és a bekövetkező változásokról pontos ismereteink legyenek, amelyek hasznosíthatók a rendszer üzemvitelében és a természetvédelmi beavatkozásokban, mivel a vízi növényzet-bevonat komplexum, mint integrált hatású bio-monitor-egység erre alkalmasnak minősül és része az EU VKI direktívának.

HIDRO2-4

Néhány hazai folyóvíz típus ökológiai állapota a puhatestűek (Bivalvia, Gastropoda), mint indikátor csoport alapján

Kovács Kata

V. évf. környezettudomány

VE Tanári Kar, Limnológia Tanszék

témavezetők: Dr. Padisák Judit, Dr. Juhász Péter

Munkám során a Mollusca törzs alapján vizsgáltam meg 14 módosított hazai víztestet 2004 év nyarán. Vizsgált víztestek a következők voltak: Kerka, Szerencs, Gyöngyös, Zagyva Nemtinél, Galga Galgamácsánál, Rinya, Vadász-patak, Zagyva Selypnél, III. Övcsatorna, Galga torkolat szakasza, Fekete Körös, Zagyva Jászteleknél, Kettős Körös, Holt Sebes Körös. Célom volt annak megállapítása, hogy ezek a módosított víztestek milyen mértékben degradáltak a természetes állapothoz képest, és a jó ökológiai potenciál mely esetekben érhető el. A puhatestűek alapján készített értékelésemet alátámasztottam más makrogerinctelen csoportok adataival. Összesen 31 puhatestűfajt mutattam ki, a víztestenkénti hasonlóságai eredmények alapján és a karakterfajok alapján minősítettem a víztesteket figyelembe véve a módosító hatásokat és más fauna felmérési adatokat.

Az 5. típuson belül három vízfolyást természetes állapotúnak ítéltünk (Kerka, Szerencs-patak, Zagyva), és egy erősen módosított, ahol a jó potenciál elérhető (Gyöngyös).

A 9. típusból kiválasztott Galga természetes besorolású, állapota megfelelő anyagi ráfordítással javítható. A Vadász-patak természetes, jó ökológiai állapota valószínűsíthető. A Rinya az erősen módosított kategóriába tartozik.

A 18. típuson belül a Zagyva erősen módosított, a III. Övcsatorna mesterséges vízfolyás. A Galga-patak természetes és a jó állapot elérhető.

A felmért síkvidéki folyóvizeink többsége a 19. tipológiai típuson belül mind a hidromorfológiai-, mind a fauna felmérési adatok alapján az erősen módosított kategóriába kell hogy tartozzon az előzetes besorolásuknak megfelelően.

A fentiek alapján az a következtetés vonható le, hogy minden víz egyedi, a hatások, melyek alakítják egészen szerteágazóak. A vízi élővilág alapos feltárása és rendszeres vizsgálata rengeteg ismeretet ad a vizeink állapotáról és a különböző beavatkozások mértékének megállapítása, valamint hatásainak várható becslése is csupán az élővilág alapos ismeretével lehetséges.

Valamilyen rendszer szükséges, hogy pontosan ugyanazokról a dolgokról tudjanak beszélgetni a szakemberek. Azonos szempontok alapján elkészített, minden szakterület számára elfogadható és érthető rendszert kell alkotni. Mindezeknek azt a célt kell szolgálniuk, hogy vizeink állapotfelmérése sikeres legyen, annak érdekében, hogy a jó illetve a kiváló ökológiai állapot vagy potenciál a jövőben minél hamarabb elérhető legyen.

HIDRO2-5

Hidrobiológiai változásokról a Bodrogyuban

Lövei Gabriella Zsuzsanna
IV. évf. biológia
EKF TTK Állattani Tanszék
témavezető: Dr. Andrikovics Sándor

Hazánk a Kárpát-medencében természeti, természetvédelmi szempontból különleges és egyedülálló helyet foglal el. Nincsenek ugyan alpoki méretű hegyeink (legalábbis a Trianoni Magyarország területén), vagy Bajkál méretű tavaink. Amink azonban van e kis országban, földrajzi helyének köszönhetően az élővilág szempontjából is egyedülálló, így van ez a Bodrogyuggal is. A Hernád, a Bodrog és az országhatár által határolt háromszögnek természetvédelmi szempontból legértékesebb részeit fedi le. A magyar tájak között kevés az olyan nagy történelmi múlttal, természeti szépséggel, ritka értékekkel rendelkező, szinte még érintetlen táj, mint a Tokaj vidéke és a hozzá csatlakozó Bodrogyug.

A dolgozatom célja a Bodrogyug vizeiben az alapvető hidrobiológiai változások felmérése, tekintettel arra, hogy a terület a nagy folyószabályozásoktól kezdve állandó változáson ment keresztül. Azt szerettem volna elérni, hogy a tájhasznosítás megfelelő irányait a döntéshozók kijelölhessék. Célom volt a gerinctelen makrofauna, a nekton és a vízimadarak tér-idő mintázatának felmérése, és az eredmények értékelése a folyóvízi kontinuitás mentén az eu-para-, valamint a plesiopotamon rendszerekben. Dolgozati témám során fontosnak tartottam, hogy a kutatási eredmények egységes értékelésén túl képet adjon a terület élővilágáról, annak állapotáról és a különböző típusú élőhelyek fajösszetételéről illetve az életközösségek működéséről. Ezért a szűkebb kutatócsoport szakterületének megfelelően vizsgáltam a vízkémiai, hidrofizikai és botanikai és a zoológiai helyzetet. A Bodrogyugon, mint ökológiai zöldfolyosón alapvető hidrozoológiai monitoringozást is végeztünk, hogy a folyóvízi rendszerek jelenlegi állapotát felmérjük és a hagyományos holtág rendszer dinamikáját feltárjuk. A kutatás a vízi szervezetek (haltáplálék felmérése), valamint a biológiai szűrőmechanizmusok (parti vegetáció) ezredfordulós állapotát próbálta rögzíteni.

A Bodrogyug 8 karakterisztikus élőhelye közül a balsai folyószakasz a Felső-tiszai természetvédelmi terület vízi és génmegőrzés szempontjából lényeges részét képezi, mely Európa zöldfolyosójához tartozik. Azért ezeket a szinteket vizsgáltam, mert feltevéseim szerint a holtágak potamonja revitalizálódni képes, így az antropogén hatások ellenére a főfolyó élővilága visszatérhet. A terület főbb növénytársulásai: *Salicetum albae* – *Fragilis tibiscense*, *Fraxino pannonicæ* – *Ulmum*, *Populaetum nigae* konszoláció, *Salicetum triandrae*, *Phragmition* társulás, *Magnicarcion* társulás, *Salvinio* – *Spirodeletum* társulások. A gerinctelen makrofaunát mint haltáplálékot vizsgáltam. Fontosnak tartottam vizsgálni a szitakötők madarak táplálkozásában betöltött szerepét. A madarak produkciobiológiai jelentősége mutatja a terület természetvédelmi értékeit és diverzitását (melynek értéke átlagosan 2,3).

HIDRO2-6

A tiszavirág-lárvák előfordulását befolyásoló tényezők vizsgálata

Málnás Kristóf András
V. évf. biológus
DE TTK Hidrobiológiai Tanszék
témavezetők: Dr. Lengyel Szabolcs, Dr. Dévai György

A 2004. június 25–27. között a Kisar község határában lévő Igonya nevű szakadóparton tanulmányoztuk a helyi tiszavirág telepet. Vizsgáltam a lárvák eloszlásának mintázatát, továbbá az ezért az eloszlásért felelőssé tehető változókat, azokat megpróbáltuk, azokat megpróbáltuk rangsorolni.

A terepmunka során kvantitatív mintavételt végeztünk bagger mintavevővel. A helyszínen feljegyeztük a mintavételi pont bizonyos jellemzőit. Ezek: az aljzat minősége, az áramlás erőssége. A mederanyagból talajtani vizsgálatok céljából mintát tettünk el. A fogott lárvákat várható kirepülési idejük szerint elkülönítettük, és feljegyeztük azok számát. A lárvák egy részét egyéb vizsgálatok számára 96%-os alkoholba eltettük. A hozott talajmítával szemcseméret- analízist és Arany-féle kötöttségi vizsgálatot végeztem. A terepen feljegyzett és a számolt adatokat statisztikai program segítségével értékeltem. A tényezőket a prezencia-abszencia, és a denzitás tükrében vizsgáltam.

A változók együttes vizsgálata során az elsődleges befolyásoló tényezőnek a laza üledék jelenléte bizonyult. Az üledékmentes aljzatot nagyobb valószínűséggel kolonizálják a lárvák, mint üledéssel borítottat. A lárvák egyedszáma negatívan korrelál a medert borító üledék vastagságával. A granulometriai elemzés során kiemeltük a 20µm-nél kisebb szemcseméretű frakciót, melynek a lakott szakaszokon nagyobb volt az aránya mint a lakatlanokon, és a 100µm-nél nagyobb szemcseméret frakciót, mely a lakott szakaszokon kisebb arányban volt a talajban, mint a nem lakott szakaszokon. További eredményünk szerint nagyobb áramlás sebesség kedvez a tiszaviráglárváknak.

HIDRO2-7

A hansági élőhely-rekonstrukció vízbogarainak (Coleoptera) vizsgálata

Molnár Ákos

V. évf. biológus

ELTE TTK, Állatrendszertani és Ökológiai Tanszék

témavezető: Dr. Csabai Zoltán, Dr. Ambrus András, Dr. Farkas János

2003 őszén kapcsolódtam be a dél-hansági láprekonstrukció területén folyó biodiverzitás-monitorozásba, a vízbogarak (Coleoptera) vizsgálatával. Munkám során egyrészt célom volt a létrejött vizes élőhelyek összehasonlítása a vízbogarak gyűjtésével nyert adatok alapján, ez ugyanis támpontokat adhat a jövőben kifejezetten a vízi gerinctelenek igényeihez igazított élőhely-rekonstrukciók tervezéséhez. Másrészt szeretném megteremteni az összehasonlítási alapot a vízbogarak ökológiáját, és a vizes élőhelyek rekonstrukcióját vizsgáló hazai kutatásokhoz. A munka során tovább bővíthetők ismereteink a hazai vízbogár-faunisztikai adatokat illetően is, hiszen az országnak csak kb. 6%-a tekinthető ebből a szempontból kielégítően feltártnak.

A mintavételezést 19 mintavételi ponton, összesen hét alkalommal, kézhálósálal végeztem, a Nemzeti Biodiverzitás-monitorozó Rendszer előírása szerint.

Összesen 66 faj 5408 egyedét gyűjtöttem be és határoztam meg. Ezek a következő vízbogár-családok között oszlanak meg: Haliplidae, Dytiscidae, Noteridae, Spercheidae, Hydrochidae, Hydrophilidae. Legnagyobb egyedszámban a hazánkban egyébként is gyakori, tágtúrású *Noterus crassicornis*, és *N. clavicornis*, valamint *Hydrobius fuscipes* fordultak elő, de a fajok nagy része az acidofil, lápokot, illetve mocsaras területeket kedvelő állatok közül került ki.

Jelentős kvalitatív és kvantitatív különbségek mutatkoztak tavasszal a közvetlenül elárasztott területek és az árasztás következtében megjelenő talajvíz táplálta kisvizes élőhelyek vízbogár-populációi között. Ennek fő okai a vízbogarak szaporodási sajátágaiban és az eltérő vízminőségben keresendők. A fajok többségére jellemző, hogy a tavaszi nagy egyedszám-növekedést nyáron erős csökkenés követi, ekkor az egyes víztestek vízbogár faunája mind minőségi mind mennyiségi szempontból jelentős hasonlóságot mutat. Ősszel a hasonlóság mértéke tovább nő. Ugyancsak tavasszal mutatkoztak eltérőnek az árasztáson belül azok a területek, ahol a Nemzeti Park növényzeti telepítést végzett. A különbségek a vegetációs időszak végére azután lecsökkentek, megszűntek.

HIDRO2-8

Kétszárnyúak (Diptera) minőségi és mennyiségi előfordulási viszonyai egy alföldi mocsárban

Tóth Mónika

IV. évf. biológus

DE TTK Hidrobiológiai Tanszék

témavezető: Dr. Dévai György, Móra Arnold

Vizsgálataink során egy alföldi, asztatikus jellegű mocsár két különböző sásállományából vett minták alapján elemeztük a kétszárnyúak minőségi és mennyiségi előfordulási viszonyait, illetve ezek változását. 14.547 kétszárnyúlárvát és -bábót gyűjtöttünk, amelyeket család szinten azonosítottunk. 14 családot különítettünk el (Limoniidae, Psychodidae, Chaoboridae, Culicidae, Dixidae, Chironomidae, Ceratopogonidae, Cecidomyiidae, Tabanidae, Stratiomyidae, Syrphidae, Sciomyzidae, Ephydriidae, Muscidae).

A különböző sásállományok egyedszám alapján történő összehasonlításához Mann-Whitney U-tesztet alkalmaztunk. Az elemzés során a Stratiomyidae, a Dixidae, a Chaoboridae, a Ceratopogonidae, a Culicidae és a Syrphidae családok esetében szignifikáns különbséget tapasztaltunk a két sásállomány között mind az egységnyi térfogatra, mind az egységnyi növényzeti tömegre vonatkoztatott egyedszámok alapján. A Chironomidae család esetében az egységnyi növényzeti tömegre vonatkoztatott egyedszámok alapján szignifikáns különbséget tapasztaltunk a két sásállomány között, míg az egységnyi térfogatra vonatkoztatott egyedszámok alapján a különbség nem volt statisztikailag kimutatható. Vizsgáltuk az egyes családok egyedszámának időbeli alakulását is a két sásállományban.

Az egyes családok sásállományhoz való kötődését IndVal analízissel vizsgáltuk, mind az egységnyi víztérfogatra, mind az egységnyi növényzeti tömegre vonatkoztatott egyedszámok alapján. A Dixidae és a Culicidae családok a *Carex riparia*, míg a Ceratopogonidae, a Syrphidae és a Sciomyzidae családok a *Carex disticha* állományaihoz szignifikánsan kötődtek, nagy indikátorértékkel. A Chironomidae, a Stratiomyidae és a Limoniidae családok mindkét állományban viszonylag nagy indikátorértékkel, azonos valószínűséggel fordultak elő. Érdekes a Chaoboridae család esete, a tollasszúnyogok nagy indikátorértékkel kötődtek a *Carex riparia* állományaihoz, de csak az egységnyi növényzeti tömegre vonatkoztatott egyedszámok alapján. Az egységnyi víztérfogatra vonatkoztatott egyedszámok esetében a Chaoboridae család mindkét állományban azonos valószínűséggel, viszonylag nagy indikátorértékkel fordult elő.

A kétszárnyúak előfordulását befolyásoló környezeti tényezőket többszörös regresszióanalízissel vizsgáltuk. A vizsgálat során a mintavételekkor mért háttérváltozók értékeit összevetettük mindkét sásállományban az összegyedszámmal, az egyes családok egyedszámával és a mintánkénti taxonszámokkal.

HIDRO2-9**A Balaton köves partjának állapota (2001-2004)**

Varga Éva
 V. évf. biológus- ökológus
 DE TTK Alkalmazott Ökológia Tanszék
 témavezető: Dr. Lakatos Gyula

A parti öv sajátos felépítése, helyzete, alzatadó tulajdonsága folytán kiemelt jelentőségű a vízi élet szempontjából, továbbá, mint a víztér és a szárazföld átmeneti sávja, kiemelt környezetvédelmi fontossággal bír, élőhelyi változatosságot nyújtó szerepe meghatározó az élővilág sokféleségének (biodiverzitásának) biztosításában. A Balaton köves parti zóna 2001-2004 évi vizsgálata során tanulmányoztuk az epilíton térbeli struktúráit és szezonális változásait. Az élőbevonat élőlényeiinek taxonómiai vizsgálata mellett, az ökológiai állapot minősítését is elvégeztük az EU VKI javaslatok felhasználásával. A vízmentes köves partok növényzetét előzetes cönológiai vizsgálattal mértük fel. A Balaton köves partján és partja mentén vettünk mintát és végeztünk méréseket az északi és a déli parton, kijelölt mintavételi helyeken 2001-2004 júliusában és októberében, a szükséges háttér információ nyeréséhez Secchi koronggal mértük az átlátszóságot és a vízmélységet, a vízhőmérsékletet, pH-t, a vezetőképességet, az oldott oxigén koncentrációt és oxigéntelítettséget, valamint az elektódpotenciált. A négy nem-taxonómia perifiton indexre (NTPI) kapott értékszámok összegéből számolt átlag alapján történik a vizek ökológiai állapotának ill. státuszának meghatározása. A kiváló ökológiai állapot és a rossz, szennyezett állapot, mint szélső értékek között további három állapot adható meg, így a minősítési skálát öt egység képezi. A monitorozó rendszerek összehasonlíthatóságát a perifiton kategória (tömeg), a csoport (ha%), a típus (kl-a%) és a jelleg (AI) alapján végeztük el és használtuk fel az ökológiai állapot meghatározásához (Lakatos et al., 2002). Keszthelyi- és a Fűzfői- medence mintavételi helyein az epilíton nem taxonómiai perifiton index (NTPI) felhasználásával meghatároztuk az ökológiai állapotot. A 2001-es eredmények alapján mindkét medencére a mérsékelt ökológiai állapot a jellemző, míg 2002-ben Fűzfőnél, 2003-ban Máriafürdőnél és Zamárdinál is egy rosszabb állapotot figyeltünk meg, míg 2004-ben állapot javulást tapasztaltunk. A vízmentes köves partszakaszok növényzetének előzetes vizsgálata során 2003. szeptember végi terepbejáráskor 84 növény taxont találtunk, fajra 80 növényt, főleg „őszi” fajt tudtunk azonosítani. Legtöbb növény fajt a már három éve szárazon álló zamárdi (Z) szabad strand kőszórásain találtunk, míg legkevesebb, az előzőnek csupán 55%-a a viszonylag friss kőszórású fonyódi (Fo) partszakaszon volt azonosítható. A fajoknak csak egy negyede (25%) sorolható a természetes állapotokra utaló faj közé, 32% zavarástűrő (TZ) és 52% a gyomfajokhoz (GY) sorolható. Egyetlen adventív növényfajt tudtunk azonosítani.

2004 őszén is elvégeztük a növények azonosítását. A tavalyi évhez képest Keszthelyre volt jellemző a legtöbb növényfaj. 2004 őszén 91 növény taxont találtunk, fajra 82 növényt tudtunk azonosítani. A tavalyi balatoni vízszintcsökkenés a köves part állapotára is jelentős hatással volt, ezért további vizsgálatokat végeztünk 2004-ben. Az eddigi eredményeink a Balaton jelenlegi vízhiányos állapotának a felméréséhez fontos alapul szolgálhatnak és a jövőbeni vizsgálatokhoz nyújtanak értékes szakmai ismereteket.

HUMÁN-1**A testalkat életkori változása**

Antalovits Dániel
 V. évf. biológus
 ELTE TTK Embertani Tanszék
 témavezető: Dr. Bodzsár Éva

Tanulmányomban a testforma egészének, a morfológiai testalkatnak az életkori módosulását és a felnőttkori testalkatban megnyilvánuló nemi dimorfizmus érvényre jutásának folyamatait elemeztem, 4-18 éves egri gyermekek mintáján.

A testalkatot kétféle módszerrel vizsgáltam: (1) Heath és Carter szerinti szomatotípus és a (2) Conrad- féle növekedési típus alapján. A Heath-Carter- féle szomatotípus három komponense közül az endomorfiában a test relatív zsírtartalma, a mezomorfiában a muszkulo-szkeletális robuszticitás, az ektomorfiában pedig a test relatív linearitása nyer kifejezést. A Conrad- féle tipizálás a törzs laposságának kerekdedségének valamint a csontozat és az izomzat fejlettségének kombinációján alapszik.

A gyermekkori endomorfiás mezomorf szomatotípus a leányoknál az életkor előrehaladtával egyre endomorfbábbá, a fiúknál pedig egyre inkább centrális típusúvá válik. A szomatotípus komponensei közül az endomorfia változik a legjelentősebben, és e változások 14 éves kortól szignifikáns nemi eltérés kialakulásához vezetnek. A leányok törzse az életkor előrehaladtával egyre laposabb, de 10 éves kortól egyre kerekdedebbé válik. A fiúk törzsének laposodási folyamata 14 éves korig érhető tetten, ezután a törzs kerekdedségének fokozódása figyelhető meg. A lányok törzse laposabb, mint a fiúké az egész vizsgált korintervallumban. A mozgató szervrendszer robuszticitása az életkor előrehaladtával mindkét nemnél fokozódik 12 éves korig. Ezt követően a lányok mozgató szervrendszeri fejlődése szinte megáll, míg a fiúk robuszticitása további egyenletes növekedést mutat, ami 13 éves kortól szignifikáns nemi különbséget eredményez.

HUMAN-2

Várandós anyák étrendjének kiegészítése halolaj eredetű n-3 zsírsavakkal

Jakobik Viktória
V. évf. biológus
PTE TTK, PTE ÁOK Gyermekklinika
témavezető: Dr. Decsi Tamás

Kérdésfelvetés: A dokozahexénsav (DHA) fontos szerepet játszik a csecsemők központi idegrendszerének fejlődésében. Kutatócsoportunk korábbi vizsgálatai alapján felvetődött a megszületés kori DHA-ellátottság javításának szükségessége. Jelen szupplementációs vizsgálatban a legfőbb kérdés az volt, hogy a várandós asszonyok étrendjének a terhesség második felében történő kiegészítése dokozahexénsavval (0,5 g/nap), vagy 5-metil-tetrahidro-fólsavval (0,4 mg/nap), vagy a kettő kombinációjával kedvező biokémiai és élettani hatásokkal jár-e.

Személyek és módszerek: A vizsgálatba 61 magyar Pécssett élő várandós anyát vontunk be a 20. terhességi héten. Az anyák naponta vagy 500 mg DHA-at, vagy 400 mg 5-metil-tetrahidro-fólsavat (5-MTHF), vagy placebo-t, vagy 500 mg DHA-at és 400 mg 5-MTHF-at egyaránt tartalmazó táplálék-kiegészítőt kaptak mindvégig a terhesség alatt.

A vörösvértest membrán lipidek zsírsavtartalmát vékonyréteg kromatográfiával választottuk szét frakciókra. A vörösvértest-membrán lipidek foszfatidilkolin (PC) és foszfatidiletanolamin (PE) frakciójának a zsírsavösszetételét nagy felbontóképességű kapilláris gáz-folyadék kromatográfiával határoztuk meg. Az értékeket Windows SPSS programmal, Mann-Whitney és Wilcoxon teszttel hasonlítottuk össze.

Eredmények: Vizsgálatunkban nemcsak az anyai lipidek zsírsavösszetétele tükrözte jól a szupplementációt, hanem a magzat zsírsavellátottságát reprezentáló köldökzsinór vérben is szignifikánsan magasabb DHA értékeket mértünk a szupplementált, mint a kontroll csoportokban. Ezek az adatok arra utalnak, hogy a placenta a hosszúszenlácú többszörösen telítetlen zsírsavak számára átjárható.

Következtetés: Az anyai étrend napi 500 mg DHA-val a terhesség 20. hetétől való kiegészítése vizsgálatunkban alkalmas módszernek bizonyult a magzat DHA-ellátottságának szignifikáns javítására.

HUMAN-3

A testösszetevő komponensek életkori változása

Keszthelyi Magdolna
IV. évf. biológus
ELTE TTK Embertani Tanszék
témavezető: Dr. Bodzsár Éva

Tapasztalati tény, hogy a felnőtt népesség jelentős részét érintő, az élet minőségét erősen befolyásoló, a morbiditásban és mortalitásban vezető betegségek rizikófaktorai már a gyermek- és ifjúkorban is megjelennek. A helytelen életmód nyomán a testösszetevő komponensek kóros arányára utaló elhízás és kóros soványság, valamint a gyermekkori pszichés terhelések és az egyéb, ún. civilizációs ártalmak a felnőttkori munkavégző képesség minőségére és időtartamára is kihatnak.

Míg az iparilag fejletlen országok lakói az éhínségtől szenvednek, addig a fejlett országokban az egyik leggyakoribb táplálkozási rendellenesség a kövérség. Az elhízás kockázati tényezője számos anyagcsere, keringési, légzőszervi, mozgásszervi, onkológiai és ginekológiai rendellenesség, ill. kórkép kialakulásának. A felnőttkori kövérség kockázata a kövér gyermekeknél nagyobb. Az 1–5 éves korban túlsúlyos gyermekeknek több mint egy negyede, a 3–9 éves korú kövér gyerekek több mint egy harmada és a 10–13 éves korú kövér gyermekek több mint 80 %-a felnőttkorban is kövér lesz.

Tanulmányomban a bioelektromos impedancia (BIA) alapján becsült testösszetevő komponenseknek: a zsírmentes testtömegnek, a test relatív zsírtartalmának, a zsírmentes testtömeg víztartalmának, valamint a test folyadéktereinek életkori változását elemeztem egy közép-magyarországi mintán (10-18 éves korú 415 fiú, 330 leány). Továbbá a testösszetevő komponensek centilis eloszlását határoztam meg, és a BIA-val becsült testzsír életkori változásának trendjét hasonlítottam össze a zsírbecslésre leggyakrabban használt antropometriai jellemzők (BMI, Drinkwater-Ross módszerrel számolt zsírtömeg) változásával.

HUMAN-4

A koraszülöttek köldökvénájának fény- és elektronmikroszkópos vizsgálata

Linke Nikolett, Bayer Lívia

V. évf. biológia

SZTE TTK Állattani és Sejtbiológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Fekete Éva, Dr. Bagyánszki Mária

Az embrionális fejlődés során a szükséges tápanyag a köldökvénán keresztül érkezik a magzathoz. Ha a köldökvéna endothelsejtjei sérülnek, a magzat vérellátása romlik, ami patológiás elváltozásokhoz vezethet. Feltételezésünk szerint a vérátfolyás szabályozásában, így a magzat vérellátásában fontos szerepet játszanak a Cajal-féle interszticiális sejtek (ICC) is, melyek jelenlétét köldökerekben mi írtuk le először.

Munkánk során kvantitatív fény- és elektronmikroszkópos módszerrel vizsgáltuk, hogy van-e különbség az érett újszülöttek és a koraszülöttek köldökvénájának szövettani szerkezetében, valamint egyes vazodilatációs (eNOS, VIP) faktorok mennyiségében. Eredményeink 11 érett újszülött és 8 koraszülött köldökvénáján végzett vizsgálatokból származnak.

Az apoptózis jeleit mutató endothelsejtek és a degenerálódó ICC nyúlványok számát vizsgáltuk elektronmikroszkópos módszerrel. Az adatokat statisztikai analízisnek vetettük alá. A proapoptotikus Bax fehérje ellen készített antitesttel paraffinos metszeteken immunfestést végeztünk és a festés intenzitását kvantitatív és szemikvantitatív módszerrel értékeltük.

Az eNOS és a VIP mennyiségi különbségét a két vizsgált csoportban immunhisztokémiai módszerrel határoztuk meg.

A pusztuló endothelsejtek aránya a koraszülötteknél jóval nagyobb volt (60,2%), mint az érett újszülötteknél (36,8%). A koraszülött mintákban a degenerálódó ICC nyúlványok száma is szignifikánsan nagyobb volt. A Bax-immunfestés intenzitásának szemikvantitatív értékelése sokkal erőteljesebb festődést mutatott a koraszülöttek endothelsejtjeiben, mint az érett minták esetében. A denzitometriai mérések nem mutattak szignifikáns különbséget a két csoport Bax-festődés intenzitása között.

Az eNOS-immunfestés intenzitása a koraszülöttek endothelsejtjeiben duplája volt annak az értéknek, mint amit az érett újszülötteknél mértünk. A VIP-immunfestés intenzitása a koraszülötteknél és az érett újszülötteknél nem mutatott szignifikáns eltérést.

Eredményeink alapján feltételezzük, hogy a koraszülöttek köldökvénájának ultrastrukturális és immunhisztokémiai vizsgálata során tapasztalt változások szerepet játszanak a koraszüléshez vezető patológiás folyamatok kialakulásában.

HUMAN-5

Metabolizáló enzimek és a p53 gén allélpolimorfizmusai magyarországi roma populációban

Orsós Zsuzsa

V.évf. biológus

PTE TTK, PTE ÁOK Orvosi Népegészségtani Intézet

témavezető: Dr. Kiss István

Magyarország legnagyobb kisebbségét a roma népesség képezi. A romák halálozási viszonyai több tekintetben eltérnek a hazai nem roma népességétől. Ennek okát részben környezeti, életmódi, illetve a társadalmi helyzetből adódó tényezőkben kell keresni, másrészt viszont elképzelhető, hogy genetikai különbségek is hozzájárulnak a morbiditási-mortalitási adatok alakításához. A daganatokkal kapcsolatban ilyen genetikai tényezők lehetnek egyes metabolizáló enzimek allélpolimorfizmusai, amelyek befolyásolhatják a daganatok iránti egyéni érzékenységet. A romák genetikai vizsgálata eddig elsősorban az örökletes betegségekre szorítkozott, és nincsenek adatok az úgynevezett „egyéni érzékenység” jellegű, alacsony penetranciájú tényezőkre (elsősorban metabolizáló enzimek illetve onkogének vagy tumor szuppresszor gének allélpolimorfizmusai) vonatkozóan.

Jelen vizsgálatunkban az N-acetiltranszferáz 2 (NAT2), a glutation-S-transzferáz M1 (GSTM1), glutation-S-transzferáz T1 (GSTT1) és a citokróm P450 1A1 (CYP 1A1) metabolizáló enzimek, illetve a p53 tumor szuppresszor gén allélmegoszlásait vizsgáltuk a hazai romák egyik csoportjában, az oláh cigányokban. A talált megoszlásokat összevetettük a magyarországi nem roma népesség adataival, illetve irodalmi adatokból származó indiai allélgyakoriságokkal is. A mintagyűjtés a Magyar Roma Projekt keretében történt (195 roma minta), a genotipizálásokat perifériás fehérvérsejtekből izolált DNS-ből végeztük, polimeráz-lánreakción alapuló módszerekkel (NAT2 – gyors illetve lassú acetilálók, GSTM1 és T1 – 0 és + genotípus, CYP 1A1 *Ile/Val*, p53 72-es kodon *Arg/Pro* polimorfizmus).

Eredményeink szerint a GSTM1 allélek megoszlása szignifikánsan különbözött a hazai roma és nem roma népességben (OR: 2.08, 95% CI: 1.45-2.99), a GSTT1 és a CYP 1A1 esetén nem volt értékelhető eltérés, míg a NAT2-nél (OR: 1.42, 95% CI: 1.00-2.00) és a p53 allélpolimorfizmusnál (OR: 10.2 95% CI: 6.45-15.63) szintén különbség volt a két populáció között. A hazai nem roma népesség allélgyakoriságaitól eltérő eloszlást mutató mindhárom polimorfizmus esetében (GSTM1, NAT2, p53) a romák allélmegoszlásai nem mutattak viszont statisztikailag szignifikáns különbséget az indiai populációkon végzett vizsgálatok eredményeitől.

Vizsgálatunkban sikerült statisztikailag szignifikáns különbséget találni a hazai oláh cigányok és a nem roma populáció egyes allélgyakoriságai között. Mivel mind a GSTM1, mind a NAT2, mind a p53 polimorfizmusok befolyásolhatják egyes daganatok (pl. colorectalis tumorok, hólyagtumorok, tüdőrák) előfordulási gyakoriságát, lehetséges, hogy kis mértékben hozzájárulnak a hazai romák nem roma lakosságtól eltérő morbiditásának alakulásához. E feltételezés megerősítéséhez további – daganatos ill. egészséges roma személyeken végzett – molekuláris epidemiológiai vizsgálatokat tervezünk.

HUMAN 6

A testi fejlettség szomatopszichés aspektusai

Tóth Katalin
V. évf. biológia-környezettan
ELTE TTK Embertani Tanszék
témavezető: Dr. Bodzsár Éva

A pubertáskorra jellemző legjelentősebb morfológiai változások: a növekedés felgyorsulása, a testösszetétel, a testarányok és a testalkat megváltozása valamint a másodlagos nemi jellegek manifesztálódása. A jelentős testi változások és a szexuális érés igen gyakran a pszichikai funkciók labilitásával és fokozott mértékű önmegfigyeléssel jár együtt.

Tanulmányomban a következő kérdésekre kerestem a választ:

- (1) Van-e hatása a pubertáskorú fiatalok szubjektív testképére a testösszetételnek és a testalkatnak, (2) A testösszetétel és a testalkati faktorok értékének önértékelésre (testképre és énképre) gyakorolt hatása változik-e a nem és az életkor függvényében?
- (3) Az átlagtól eltérő testösszetétel és testalkat befolyásolja-e az önértékelést?

Vizsgálatok 732 (408 fiú és 324 leány) 10-18 éves Heves és Pest megyei tanulót érintettek. A testforma jellemzésére a négykomponensű Drinkwater-Ross-féle módszerrel a testösszetételt és a Heath-Carter-féle módszerrel a szomatotípust határoztam meg. 100 egységből álló Tennessee-féle kérdőív segítségével vizsgáltam a testképet, a morális énképet, az individuális énképet, a családi énképet, a szociális énképet, a teljes énképet és az önkritikát.

A vizsgálati eredmények azt mutatják, hogy a serdülő fiatalok önértékelését a saját testük és külsejük miatt érzett aggodalom, a testképpel való elégedettség vagy elégedetlenség mellett, kortárs csoportjuk társas reakciója, szomatopszichés hatásrendszere is nagymértékben meghatározza, mivel az egyén számára önmagában is krízistényezőt jelentő változásokat a pubertások valamely közösség tagjaiként élik át. Éppen ezért a serdülőkorú gyermekkel foglalkozó pedagógusok számára is fontos, hogy megismerjék a biológiai növekedés és érés, valamint a pubertások értelmi, emocionális és szociális fejlődése közötti kapcsolatot. Ezek ismeretében prevenciós eljárások alkalmazásával későbbi szomatikus és mentális betegségek előzhetőek meg.

HUMAN 7

Az egri gyermekek szekuláris növekedésváltozása

Tóth Katalin
V. évf. biológus
ELTE TTK Embertani Tanszék
témavezető: Dr. Bodzsár Éva

A pozitív szekuláris növekedésváltozás egy olyan jelenség, mely legszembetűnőbben az egymást követő generációk azonos kronológiai korú egyedeinek egyre magasabb termetében, testarányainak különbözőségében, és a nemi érés korábbi kronológiai életkorra tolódásában nyilvánul meg. A növekedési és érési mintázat ilyen irányú változásának hátterében a higiénés és a szociális körülmények javulása áll.

Vizsgálataim során egy 724 fiatalból (3-18 éves) álló egri mintának egy 20 évvel ezelőtt készült egri vizsgálattal való összevetésével arra keresem a választ, hogy a két minta között kimutatható-e különbség a legfontosabb testméretekben (testmagasság, testtömeg, válszélesség, csípőszélesség, mellkaskerület, könyökszélesség, térdszélesség, tricepsredő, lapockaredő és csípőredő), testarányokban (hosszúsági-szélességi, hosszúsági-kerületi, szélességi-szélességi arány, és a testtömeg-testmagasság aránya), valamint az érés ütemében, és ha igen, akkor a változások milyen irányúak, mely korcsoportokban a legjelentősebbek, valamint módosítják-e a nemi dimorfizmus mértékét.

A különböző szempontok szerint képzett alcsoportokat kétmintás t-próbával, valamint az uniszex humán fantom adatainak segítségével számított z-értékek alapján hasonlítottam össze. Az érés ütemét jellemző menarche illetve spermarche mediánokat probitanalízissel becsültem.

Az eredmények alapján összességében elmondható, hogy a menarche korábbra tolódása nem kimutatható, a húsz évvel ezelőtti állapothoz képest a gyerekek abszolút testméretei nagyobbak, különösen kifejezett a testtömegbeli eltérés, amely alapvetően a zsírtömeg gyarapodásának a következménye. Ugyanakkor a testalkati indexek és a relatív testméretek azt mutatják, hogy a testforma, testalkat gracilizálódott.

HUMAN-8

X-kromoszómális STR lokuszok vizsgálata a magyar populációban

Zalán Andrea
V. évf. biológus
ELTE TTK, Budapesti Igazságügyi Orvosszakértői Intézet
témavezető: Dr. Pamzsav Horolma

A DNS technológia területén az elmúlt évtizedben bekövetkezett hatalmas fejlődés lehetővé tette a DNS polimorfizmus vizsgálatok meghonosítását. A DNS vizsgálatok igazságügyben történő felhasználását óriási érdeklődés fogadta, különösen azért, mert a molekula nagyon stabil, rendkívül polimorf és ezáltal nagyon informatív mind a származás-megállapításban, mind a bűnügyi esetekben. Az STR (Short Tandem Repeat) lokuszok olyan DNS régiók, ahol 2-6 bázispárból álló szakaszok tandem módon egymás után ismétlődnek, az ismétlődések száma a személyek között nagy változatosságot mutat. Az autoszómális STR markerek meghatározása nagy segítséget nyújt a legtöbb igazságügyi célú DNS vizsgálatban, viszont néhány speciális esetben csak a nemi kromoszómális markerek vizsgálata célravezető. Ilyen például a különböző generációs személyek közötti rokonsági vizsgálat, amikor a kulcs személy a családfából hiányzik (elhunyt, eltűnt). Magyarországon és más fejlett országokban (EU, USA) jelenleg nem létezik X-STR adatbázis, bár a hiányos rokonsági teszteknel nagyon fontos lenne az apai és az anyai X-kromoszóma azonosítása összehasonlító családvizsgálat alapján. Az X-STR vizsgálatokat követően új adatbázis hozható létre, amely segítségével az X-STR profil előfordulási gyakorisága populáció-statisztikailag becsülhető a hazai büntető- és polgárjogi eljárások során.

Az eredmények várható haszna:

egy adott, 4 lokuszhoz rendelhető X-STR mintázat populációstatisztikai interpretációja,
az X-STR adatbázis hozzáférhetősége az igazságügyi genetikusok, a klinikai és populáció-genetikai alkalmazók, valamint az antropológusok számára,
az X-STR markerek vizsgálata segítséget nyújt különböző öröklődő betegségek, valamint a nemi kromoszóma rendellenességek detektálásához,
az adatbázis létrehozásával elkezdődhet egy magyar nemzeti igazságügyi adatbázis alapjainak megteremtése.

HUMAN-9

A pubertáskori növekedés és a nemi érés kapcsolata

Zimmermann Júlia
V. évf. biológia-környezettan
ELTE TTK Embertani Tanszék
témavezető: Dr. Bodzsár Éva

A hipotalamusz-hipofízis-gonád rendszer érése és aktivitásának fokozódása eredményeként a pubertáskorban fokozatosan bontakoznak ki a másodlagos nemi jelek. E jelek segítségével egzakt módon állapítható meg a szexuális érés puberális fejlődési szakaszának a kezdete és a szexuális érettség különböző szintjei.

Tanulmányomban a szexuális érési jellemzők megjelenésének időzítését és sorrendiségét vizsgáltam, továbbá arra kerestem a választ, hogy a kronológiailag azonos korú, de eltérő nemi érettségi stádiumban lévő leányok, ill. fiúk testösszetételében kimutatható-e különbség ill., hogy a nemi érés különböző stádiumainak elérését milyen testösszetételbeli változás kíséri.

A vizsgálatok 1965 (1085 fiú és 880 leány) 11-18 éves, Heves és Pest megyei tanulót érintettek. A nemi jelek: a szeméremszőrzet, a leányoknál az emlők, a fiúknál pedig a genitáliák fejlettségi állapotának skálázása Tanner szerint történt. A nemi jelek fejlettségi stádiumainak valamint a menarche- és az oigarchekor mediánjait probitanalízissel becsültem. A testösszetétel négy komponensét a csonttömeget, az izomtömeget, a zsírtömeget és zsírtömeget Drinkwater-Ross módszerével határoztam meg.

A két nem nemi érésének időzítésében jelentős a különbség, a fiúk érése két évvel később következik be. A leányoknál a nemi érés első jele az emlő megnagyobbodása: emlők első puberális stádiumának mediánja: 9,50 év, az érett állapoté pedig 13,31 év. A szeméremszőrzet első puberális stádiuma 10,7 éves korban jelenik meg és 13,93 éves korra alakul ki az érett stádium. A menarchekor mediánja 12,68 év. A fiúknál a genitáliák puberális változása 11,38 éves korban, a szeméremszőrzeté 11,91 éves korban mutatható ki. A genitáliák érett stádiuma 15,46 éves korban, a szeméremszőrzeté pedig 15,19 éves korra alakul. Az oigarchekor mediánja 12,53 év.

Az érettségi státus alapján csoportosított, kronológiailag azonos korú gyermekek testösszetétele lényegesen különbözött. Az érett leányoknak mind a testzsírtömege, mind a csonttömege nagyobb, mint a még nem érett kortársaiké. Minél kisebb a testzsír-felhalmozás, annál később következik be a leányoknál a nemi érés. A már polluáló fiúk testtömege és csont- és izomtömeg frakciója szignifikánsan nagyobb, mint a még nem polluáló azonos korú társaiké.

IMMUN-1

A csontvelői hízósejtek érése során megjelenő 2-es típusú komplementreceptor (CR2, CD21) funkciójának vizsgálata

Balla Bernadett
2004. biológus
ELTE TTK Immunológiai Tanszék
témavezető: Dr. Erdei Anna

A hízósejtek a kötőszövetben és a mukózában előforduló, nagyszámú preformált granulomot tartalmazó immunsejtek, melyek központi szerepet játszanak a szervezet paraziták elleni védekezésében és az allergiás reakciókban. E sejtek legjellegzetesebb felszíni markere az IgE molekulát nagy affinitással kötő receptor (FcεRI), amely a hízósejtek érése során korán megjelenik.

Munkacsoportunk korábban kimutatta citofluorimetriás méréssel és CR1/2 specifikus primer-szekvenciák használatával PCR reakcióban, hogy ezek a sejtek kifejeznek CD21 molekulát, amely képes az aktivált komplementrendszer hasítási termékét a C3b-t megkötni. A CD21 molekula a sejtek csontvelői előalakból történő differenciálódása során a 10. nap körül jelenik meg a felszínen. Azt is megfigyeltük, hogy a receptor CD19, mint jelátviteli egység nélkül fejeződik ki a sejtmembránban.

Kísérleteinkhez *in vitro* egér csontvelőből differenciáltatott mukóza jellegű hízósejteket használtunk (BMMC). A pluripotens őssejteket IL-3 citokint tartalmazó médiumban tenyésztve, kb. 30 nap alatt érett hízósejteket kaptunk.

Kísérleteink első csoportjában azt vizsgáltuk, hogy a CD21 molekula kölcsönhatása a receptorra specifikus monoklonális, teljes, ill. egyláncú (scFv) ellenanyagokkal, valamint a természetes ligandummal a C3b-vel okoz-e változást e sejtek differenciálódásában. Ennek során a sejteket a megfelelő fehérjék jelenlétében kultúrában tartottuk és áramlási citométerrel monitoroztuk a jellemzően hízósejteken megjelenő FcεRI és c-kit expressziót. Kimutattuk, hogy az általunk rekombináns technikával előállított CR1/2 specifikus egyláncú ellenanyag (scFv 7g6) jelenlétében tenyésztett csontvelői sejteken kismértékben visszaszorul mindkét receptor expressziója. Megállapítottuk, hogy a sejteket CR1/2 specifikus monoklonális, teljes ellenanyag jelenlétében (7e9) differenciáltatva ezen érési markerek sejt felszínen történő kifejeződése csekély mértékben növekszik, feltehetően a hízósejteken nagy számban előforduló IgG-kötő receptorok funkciója révén. A CD21 természetes ligandumának, a C3 komplement fehérjének jelenlétében tartott BMMC-ken szintén csökken az FcεRI és c-kit expresszió.

A kísérletek második csoportjában arra kerestük a választ, hogy a CR1/2 keresztükötése kiváltja-e az érett hízósejtek degranulációját. Az eredmények azt mutatták, hogy önmagukban a receptorok egymással való keresztükötése nem vezet a sejtek aktiválódásához.

Végül a CR2 jelenlétét BMMC-ken immunprecipitációs módszerrel szintén bizonyítani kívántuk korábbi eredményeink megerősítése érdekében. Ezzel a technikával azonosítottuk a CR2 molekulát, valamint a BMMC-ken és a pozitív kontrollként használt egér lépsejteken egyaránt kimutattunk egy kb. 50 kDa tömegű molekulát, amelyet a CR1/2 specifikus ellenanyag felismer.

IMMUN-2

A GL7 (Ly77) molekula szerkezeti és funkcionális vizsgálata

Balogh Andrea
V. évf. biológus
ELTE TTK Immunológiai Tanszék
témavezető: Dr. László Glória

A GL7 molekula egy 35 kDa molekulatömegű egér glikoprotein, mely sziálsavat tartalmazó szénhidrát epitóppal rendelkezik. *In vivo* jelenlétét kimutatták B- és T-sejt előalakokon, valamint a másodlagos nyirokszervekben a germinális centrumokban. *In vitro* aktiválás hatására az aktivációt követően 48-60 órával mind a B-, mind a T-limfociták 70-80%-án megjelenik. A GL7-nek a limfociták érése és aktiválódása során kimutatott megjelenési mintázata, valamint az ellenanyag által felismert epitóp sziálsav természeténél fogva felmerült a molekula adhéziós szerepe. A molekulát felismerő ellenanyag egy patkány IgM, melyet nehéz hatékonyan fragmentálni, pentamer szerkezete és Fc része pedig zavaró a GL7 molekula vizsgálatára tervezett kísérletekben. Ezért ennek a munkának elsődleges céljával a korábban létrehozott, de megfelelő mennyiségben nem termeltethető, hibás GL7 scFv konstrukció kijavítását és megfelelő mennyiségben való kinyerésének megoldását tűztük ki. További célunk volt a molekula raft-asszociációjának, valamint annak a vizsgálata, hogy az ellenanyag kötődése indukál-e, vagy befolyásolja-e a kalcium-választ, mint a sejtekben meginduló jelsorozat egyik jelét.

Eredményeinkből megállapíthatjuk, hogy megapriming segítségével sikerült a gondot okozó mutációt kijavítanunk, és olyan egyláncú ellenanyag konstrukciót létrehozunk, amely megfelelő affinitással képes kötődni a sejtek felszínén a molekulához. Reményeink szerint mind *in vitro*, mind *in vivo* kísérleti rendszerekben alkalmas lesz a GL7 molekula adhéziós szerepének vizsgálatára.

Előbbre léptünk a GL7 molekula funkcionális vizsgálatának terén is. Konfokális lézerpásztázó mikroszkópia segítségével kimutattuk, hogy a molekula a vizsgált sejtek (egér éretlen és érett B-sejt vonalak, Th hibridómák, monocita/makrofág sejtek és aktivált lépsejtek) membránjában lipid raftokhoz asszociálisan fordul elő. A GL7 antigén ellenanyaggal történő keresztükötése a membránban az általunk vizsgált B-limfocita eredetű sejtek esetében nagyon kicsit növelte a BCR-en keresztül indukált kalcium-jelet, a vizsgált Th hibridóma esetében viszont önmagában is jól detektálható jelet váltott ki, a TCR-en keresztül kiváltott kalcium-választ pedig igen jelentősen megnövelte.

IMMUN-3

Membrán koleszterin és lipid tutajok szerepe a makrofágok felismerő és fagocitáló funkcióiban

Csepányi K. Roland
V. évf. biológus
ELTE TTK Immunológiai Tanszék
témavezető: Dr. Matkó János

A makrofágok a fertőzést követő immunválasz során végig igen fontos szerepet játszanak az opsonizált kórokozók, immunkomplexek ill. az elhalt sejtek, sejtmaradványok eliminálásában. A makrofágok (Mf) fagocitáló funkciójával kapcsolatban újabb felmerült, hogy milyen molekulák felelősek a Mf sejtek ill. a fagocitálódó apoptotikus sejtek felszínén a specifikus felismerésért, ill. a természetes immunrendszer mely molekuláris komponensei képesek szabályozni, és hogyan, a makrofágok fagocitózisát. Többek között felmerült egyes komplement faktorok ill. az akut-fázis fehérjék lehetséges szerepe is. Egyes, endocitózisban fontos membrán mikrodomének (raftok, caveolák) szerepe sem ismert makrofágok esetén a felismerés ill. a fagocitózis szabályozásában. Munkánk során így célul tűztük ki a membrán mikrodomén moduláció/destrukció (pl. koleszterin depletio, szfingomielin deprivatio) hatásának vizsgálatát egér ill. humán eredetű makrofág sejtvonalakon (WEHI3, J774, P388, RAW ill. Mono-Mac, U937). Tekintettel arra, hogy a sejtfelszíni felismerés/kötődés nem mindig vezet fagocitózishoz, így először e két folyamat kvantitatív áramlási citofluorimetriás (FACS), ill. mikroszkópiás jellemzésére alkalmas eljárást kívántunk optimalizálni sejtvonalainkon. Az aktivált makrofágok összehasonlító vizsgálatával kimutattuk, hogy a kisméretű FITC-dextrán ill. a nagyobb szubsztrátumok (pl. opsonizált élesztő, apoptotikus Sp2 mielóma sejt) felismerése/fagocitózisa igen erős Mf-sejttípus függést mutatott. Ez utalhat aktiváltságuk vagy felismerő/fagocitáló apparátusuk különbségére egyaránt. A kis- ill. nagyméretű szubsztrátumok fagocitózisa egyaránt függött a membrán koleszterin tartalmától/ a lipid tutajok integritásától, ugyanakkor citoskeletális aktivitás főként a nagyobb részecskék fagocitózisához volt nélkülözhetetlen. Kimutattuk a felismerésben potenciálisan érintett molekulák egy részének (CD11b/CD18; CD14) jelentős mértékű átrendeződését a plazmamembrán lipid tutajaiba, a makrofág aktiválásának hatására. A CD11b/CD18 komplex ellenanyaggal történő blokkolása jelentősen csökkentette, míg a CD14 blokkolása nem befolyásolta az élesztő fagocitózisát. Eddigi eredményeink szerint a CD11b/CD18 komplex expressziója és a Mf sejtek raft mikrodoménjeinek integritása egyaránt alapvető feltételei a hatékony felismerésnek és a fagocitáló funkcióknak.

IMMUN-4

Az UCF-101, az Omi/HtrA-2 proteáz gátlószerének hatása leukémia sejtek életképességére

Dunai Zsuzsanna
IV. évf. biológus
ELTE TTK, SE I. sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet
témavezető: Dr. Mihalik Rudolf

Előzmények: Az Omi/HtrA-2 sejtmagban kódolt emlős szerin proteáz, mely normál esetben a mitokondriumban lokalizálódik, az intermembrán térben. Apoptotikus szignál hatására kikerül a citoplazmába, ahol kaszpáz függő vagy kaszpáz független sejtelhalást okozhat. Előbbi a XIAP kaszpáz-gátló fehérje semlegesítésén keresztül valósul meg, míg utóbbi a szerin proteáz aktivitás következménye.

A kutatás célja: Az Omi/HtrA-2 közelmúltban kifejlesztet gátlószerét (UCF-101, Calbiochem) felhasználva két kérdésre kerestük a választ: 1.) indukál-e sejtelhalást az UCF-101; ha igen, milyen koncentrációban és milyen kinetikával? 2.) befolyásolja-e az UCF-101 más szerek (pl. a staurosporine) elhalást indukáló folyamatát?

Módszerek: Vizsgálatainkat a humán eredetű HL-60 promielocitózis leukémia sejtvonalon végeztük. A sejtelhalást áramlási citometriai módszerekkel jellemeztük. Vizsgáltuk a sejtek morfológiai változásait hematoxin-eosin festéssel.

Eredmények: Eddigi eredményeink szerint: 1.) az UCF-101 nem toxikus 12,5 μM és 25 μM koncentrációban 4 és 8 óránál viszont 24 óra inkubációnál 30% nekrozist illetve 10% apoptózist okoz. A nekrozis autofágiás eredetének lehetőségét tovább vizsgáljuk. 2.) A staurosporin (1 μM) hatását a 12,5 μM UCF-101 nem befolyásolja, a 25 μM és az 50 μM viszont a koncentráció arányában szignifikánsan gátolja mindhárom időpontban. További kísérletekben vizsgáljuk az UCF-101-nek a staurosporin indukálta kaszpáz-független elhalási folyamatra tett hatását Z-VAD-FMK (50 μM) jelenlétében.

Következtetések: Amennyiben az UCF-101 valóban specifikus gátlószer az Omi/HtrA-2 proteáznak az alkalmazott koncentrációban, akkor azt mondhatjuk, hogy 1.) a leukémia sejtek életképességének fenntartásához hosszabb távon szükség lehet az Omi/HtrA-2 proteolitikus aktivitására. 2.) indukált kaszpáz-függő és -független sejtelhalási mechanizmusok fontos összetevője az Omi/HtrA-2 proteáz, elősegíti az elhalási folyamatokat.

IMMUN-5

A miozin V és a dinein könnyű lánc vizsgálata immunsejtekben

Kovács Erika
V. évf. biológus
ELTE TTK, Biokémiai Tanszék
témavezető: Dr. Nyitray László

Munkánk során elsősorban a miozin V motorfehérje és a dinein könnyű lánc (DLC) kargó-kötő fehérje szerepét vizsgáljuk T-limfocitákban. A miozin V az aktin filamentumok mentén történő rövid távú vezikula és organellum szállításért felelős. A DLC mind a miozin V, mind a dinein könnyű lánc, így összekötő lehet az aktin és a mikrotubuláris mozgatórendszer között, valamint kargóit szekvesztráláson keresztül szabályozhatja. Immunsejtekben még egyik fehérje szerepe sem tisztázott.

Három kérdésre keressük a választ: Hogyan befolyásolják ezek a fehérjék az immunsejtek aktivációját, effektor funkcióit? Hol lokalizálódnak a sejten belül? Miket szállítanak? Első lépésként rekombináns DNS konstrukciókat állítottunk elő, melyeket elektroporációval bejuttattuk immunsejtekbe. Vizsgáltuk, hogy ez milyen hatással van az aktivációra (intracelluláris Ca^{2+} -szint mérés áramlási citofluorimetriával T-limfocitákon), illetve az effektor funkciókra (degranuláció mérés hízósejteken). Real-time RT-PCR-rel megvizsgáltuk, hogy aktiváció hatására történik-e változás a miozin V, VI és X mRNS-szintekben. Továbbá GFP fúziós fehérjék in situ lokalizációját néztük konfokális mikroszkóppal aktin- és membránfestés mellett. A kötőpartner keresést mind in vitro mind in vivo módszerekkel végeztük. Az előbbi esetben *E. coli* rendszerben expresszált GST fúziós fehérjékhez kerestünk partnereket immunsejt lizátumból, míg az utóbbi esetben a T-limfocitákban termelt miozin V-öt illetve DLC-t tandem affinitás kromatográfiával tisztítottuk a kötőpartnereivel együtt.

Eddigi eredményeink alapján feltételezhető, hogy a miozin V-nek és a DLC-nek szerepe van a T-sejtek aktivációjában, a miozin V-nek a membrán lipidraftok képzésén keresztül, a DLC-nek pedig a szekvesztráláson keresztüli szabályozó funkciója révén. Aktiváció hatására nem változnak jelentősen a miozin mRNS szintek, tehát az effektor funkciókban betöltött szerepük nem a génexpresszió szintjén szabályozódik. A miozin V-nek és a DLC-nek szerepe lehet a hízósejtek degranulációjában, a miozin V-nek a granulomok periférián szállítása és „fogva tartása” révén, a DLC-nek pedig a szekvesztráláson keresztüli szabályozó funkciója révén. A miozin V főleg a membrán alatt az aktinban gazdag kortikális régióban, a membrán lipidraftok környékén és a centroszómában lokalizálódik, a DLC pedig inkább diffúz elhelyezkedést mutat, és a centroszómában nagy számban van jelen.

IMMUN-6

Új monoklonális anti-koleszterin ellenanyagok karakterizálása limfoid sejteken

Lőrincz András
V. évf. biológus
ELTE TTK Immunológiai Tanszék
témavezető: Dr. László Glória, Dr. Matkó János

Az anti-koleszterin ellenanyagok (ACHA) jelentőségét aláhúzzák azon tények, miszerint monoklonális formájuk a koleszterin/lipid anyagcsere betegségek diagnosztikájában és terápiájában egyaránt igen előnyösen alkalmazható lehet és emellett a plázmamembrán mikrodomének (raftok, caveolák) mikroszkópiás kutatásának is hasznos eszköze lehet. Korábbi vizsgálatok szerint főként a 3β -OH csoport (és esetleg egyéb szerkezeti elemek is) szerepelhetnek a struktúrepítőban, ill. reagáltak a HDL, LDL és VLDL lipoproteinekkal is. Jelen munkánk során vizsgálni kívántuk az 1/6 és 8/8 IgG3 klónok élő intakt sejtekhez való kötődését. Vizsgálatainkhoz egér (2/13 Th0 hibridóma) ill. humán (Jurkat T limfóma) limfoid sejtvonalakat, a kötődést FACS ill. CLSM segítségével detektáltuk. FACS adataink szerint mindkét ACHA szignifikáns, bár alacsony kötődést mutatott kezeletlen egér és a humán T sejten egyaránt ($\sim 30\mu\text{g}/10^6$ sejt dózis esetén), a 8/8 klón kissé erősebb kötődése mellett. A T sejtek felszínének papainos kezelése (5-10U, 5-10 perc) dózis és időfüggő módon jelentősen fokozta mindkét ellenanyag kötődését mindkét sejthez. CLSM eredményeink szerint fluoreszcens ACHA ellenanyagaink intakt egér T sejteken jellegzetes "foltos" membrán festést mutattak, melynek egy része kolokalizált volt a sejtek raft mikrodoménjeinek egyik fluoreszcens lipid markerével, CTX-A647 molekulával. Eredményeink szerint a két ACHA képes sejtmembránban lokalizált koleszterinhez kötődni, főként papainos emésztés segítségével, ami feltehetően a kicsiny méretű epitóp ill. a nagyméretű antitest kontaktusát szterikusan akadályozó fehérjéket távolítja el a plazma membránból. A 8/8 klón így ígéretes eszköze lehet a membrán mikrodomén kutatásoknak.

IMMUN-7

Autoantitestek epitópmintázatának összehasonlító vizsgálata

Olász Katalin

IV.évf. biológus

PTE ÁOK Immunológiai és Biotechnológiai Intézet

témavezető: Dr. Németh Péter, Nagy Gergely

Kutatásainkban mitokondriális belsőmembrán enzimeket (közülük is a citrát szintáz), mint genetikailag konzervált antigéneket vizsgáltunk egészséges egyének, illetve autoimmun betegek, és szívtranszplantáltak vérében lévő autoantitestek immunológiai kimutatásával. Kíváncsiak voltunk, hogy viselkedhetnek-e autoantigénként fiziológiás és kóros körülmények között, mely epitópokat ismerik fel az enzim felszínén az autoantitestek, és hogy ez az epitópmintázat különbözik-e az egyes vizsgált csoportoknál? Az autoantitestek keletkezésének egyik elmélete szerint, egy bakteriális, vagy vírus fertőzés olyan autoantigén termelését indukálhatja, melyek keresztreakciót adhatnak saját struktúrákkal. Ezért összehasonlítottuk az emlős és bakteriális eredetű citrát szintáz enzimen felismert epitópmintázatot.

Az előzetes vizsgálatok során citrát szintáz enzim elleni IgG, illetve IgM izotípusú autoantitesteket határoztunk meg emberi véréből ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) módszerrel. A szűrő ELISA mérések során a három vizsgált csoportban összehasonlítottuk az autoantitestek mennyiségét, és izotípusát. Az eredmények alapján összeválogattunk egy reprezentatív mintacsoportot a további epitópspecifitás vizsgálatokhoz. A vizsgált epitópok kiválasztása előzetes B sejt predikcióval történt. Az epitópspecifitás vizsgálatokat tühegy-ELISA módszerrel végeztük.

Mérési adataink azt mutatták, hogy minden vizsgált csoportban jelen voltak IgM izotípusú, alacsony titerű autoantitestek, melyek mennyiségi megoszlása nem mutatott jelentős különbségeket, és az egyéni értékek időben nem változtak. A magas titerű IgM autoantitestek autoimmun betegeknél szignifikánsan gyakoribbak, míg az IgG izotípusú autoantitestek a szívtranszplantált betegekben jellemzőek. Feltételezéseink szerint – a szakirodalommal összhangban – az IgM izotípusú ellenanyagok inkább a fiziológiás, az IgG izotípusú ellenanyagok pedig a kóros immunválasz részeként értelmezhetők.

Mind a fiziológiás mind a patológiás autoantitestek egy jellegzetes epitópmintázatot képesek felismerni az emlős és a bakteriális enzimen. Ugyanakkor ez a mintázat a kétféle enzimen nagyon különböző, különösen az autoimmun betegek szérumainak esetében.

A kísérlet alapján egyértelműen megállapítható, hogy a konzervatív antigének felszínén lévő epitópok között vannak kitüntetett struktúrák, melyek mind a fiziológiás, mind a kóros autoimmunitás kiváltásában a többi epitópnál fontosabb szerepet játszanak. Ennek nemcsak elméleti jelentősége lehet, hanem várhatóan az autoimmun betegségek antigén-specifikus kezelésében, illetve megelőzésében a közeljövő biotechnológiai kutatásfejlesztésének érdeklődési körébe kerülnek.

IMMUN-8

HspBP1 elleni antitestek vizsgálata HIV pozitív embereknél

Papp Diána

III. évf. biológus

ELTE TTK, SE III. Sz. Belgyógyászati Klinika, Kutatólaboratórium

témavezető: Dr. Prohászka Zoltán

Az egyik legtöbbet tanulmányozott hősokkfehérje (Hsp) a 70 kD-s családba tartozó Hsp70. Ez a stresszfehérje nemcsak a fehérje tekeredés irányításában, hanem transzportfolyamatokban és az apoptózis szabályozásában is részt vesz. A Hsp70-nek ATP-áz aktivitása van, melynek regulációjában a HspBP1-(heat shock protein binding protein) kochaperon is fontos szerepet tölt be.

HIV fertőzés esetén a Hsp70 szintézis fokozódik, sőt azt is kimutatták, hogy segít a vírus replikációjában és megjelenik a membránjában. Korábbi eredmények azt bizonyították, hogy a HIV pozitív emberek vérében a Hsp70 elleni antitest szintje többszöröse az egészségesekben található.

Vizsgálatunk célja az volt, hogy kiderítsük, vannak-e antitestek a HspBP1 ellen egészséges és fertőzött emberek vérében, és mekkora a különbség a kettő között; van-e összefüggés a Hsp70 és az anti-HspBP1 szintje között a szérumban; milyen mértékben változik az anti-HspBP1 mennyisége a betegek kezelése során.

Méréseinkhez szilárd fázisú enzim immunszérum (ELISA) használtunk: a lemezeket rekombináns, tisztított HspBP1-gyel fedtük, kontroll és HIV pozitív személyek szérumában mértük a specifikus IgG mennyiségét.

Vizsgálataink során sikerült HspBP1 elleni antitesteket kimutatni emberi szérumban, melynek mennyisége többszöröse volt a HIV pozitív embereknél, mint egészségesekben ($p=0,0009$). A HspBP1 elleni antitest szintje nem mutatott korrelációt sem a vérben található Hsp70 mennyiségével, sem a HAART kezeléssel.

Sikeresen beállítottunk egy HspBP1 elleni antitestek mérésére szolgáló ELISA-t. A módszer segítségével kimutattuk, hogy a HIV pozitív emberek vérében magas HspBP1 elleni antitest szint található. Ez a megfigyelés arra utal, hogy közvetlen kapcsolat van a vírus és a HspBP1 között, mely autoantitest keletkezését indukálhatja.

IMMUN-9

SHP-2 foszfatáz és PI3-kináz aktivitást szelektíven befolyásoló foszfopeptid mimitikumok tervezése és funkcionális analízise

Takács Balázs
V. évf. biológus
ELTE TTK Immunológiai Tanszék
témavezető: Dr. Sármai Gabriella

A sejtek növekedésének és differenciálódásának szabályozásában kiemelkedő szerepe van a fehérjék tirozinon való foszforilációjának, illetve defoszforilációjának. Az SHP-2 egy protein tirozin foszfatáz, mely a sejtaktiváció során a sejtmembrán közelébe kerül, ahol különböző tirozinon foszforilált molekulákkal léphet kapcsolatba, pl. protein tirozin kinázokkal, adapter fehérjékkel, Fc receptorok intracelluláris részével. Az

SHP-2 molekula két SH2 domént és egy foszfatáz domént tartalmaz. Az SH2 domének lépnek kapcsolatba a foszfortirozin maradékokkal, aktiválva ezzel a foszfatázt. Inaktív állapotban az N-terminális SH2 domén a foszfatáz domén kötőzsebébe hajlik. Az

SHP-2 foszfatáznak sejtnövekedést előidéző pozitív szabályozó szerepe van, ezért egyes tumoros betegségek esetében gyógyszer-célpontként került szóba. Célunk olyan foszfopeptid mimitikumok ("csalétek") előállítását, melyek tumorsejtekbe jutva gátolják azok szaporodását.

Kísérleteinket BL 41 B-sejtvonalon végeztük olyan molekulából származó peptidokkal, melyek in vivo körülmények között az SHP-2 természetes szubsztrátja lehet: a Gab1 adaptor fehérje. Ennek GDLD (621-633) szekvenciája affinitással kötődik a legnagyobb affinitással a foszfatázhoz, és in vitro foszfatáz assay-ben fokozza a rekombináns SHP-2 enzimaktivitását.

Az irodalom szerint bizonyos vírusok argininben gazdag membránfehérjéi megkönnyítik a vírusrészecske sejtbe való bejutását; ez a hatás legjobban oktaarginin (R8) mesterséges peptiddel utánozható. A kiválasztott Gab-peptidek sejtbe juttatásához N-terminálisan palmitil-R8 szekvenciákat kapcsoltunk. Egyes peptidok korai sejtaktiválási jeleket indukáltak, ezt Western blot technikával, az aktivációt követő Ca^{2+} -választ pedig áramlási citofluoriméterrel (FACS) vizsgáltuk. Az R8 önmagában nem indukált tirozin foszforilációt, míg a palmitil-R8-konjugátumok eltérő tirozin-foszforilációs mintázatot idéztek elő és az intracelluláris Ca^{2+} -koncentráció kismértékű emelkedését váltották ki. Azonban a palmitil-R8 önmagában is kiváltja mind a tirozin foszforilációt, mind a Ca^{2+} -választ. A peptidok sejtbeli lokalizációjának megállapítására konfokális és fluoreszcens mikroszkópos vizsgálatokat végeztünk. Eredményeink szerint a peptidkonjugátumok a sejtmembránhoz lokalizálódnak. A további peptidok vizsgálata folyamatban van.

IMMUN-10

Mikrodomén-asszociált a TNF molekula?

Ungvári Ildikó
V. évf. biológus
SZTE TTK, MTA SZBK Biokémiai Intézet
témavezető: Dr. Duda Ernő

A citokinek az immunrendszer sejtjei közti kommunikációt biztosító, pleiotróp fehérjék. Egyik legjelentősebb tagjuk, az immunválaszok központi mediátora a Tumor Nekrózis Faktor α (TNF α). A TNF α egy gyulladáskeltő citokin, melynek jelentős szerepe van szinte minden immunfolyamatban. Két formában van jelen a szervezetben: membránkötött formában keletkezik, melyből proteolitikus hasítás során szabadul fel a szolubilis alak. A TNF hatását hosszú ideig a szolubilis fehérjének tulajdonították, de mára egyértelművé vált a transzmembrán TNF (tmTNF) immunrendszerben betöltött irányító szerepe is. Ezek közül talán a legizgalmasabb az utóbbi időben felismert jelenség, mely során a tmTNF nemcsak ligandként, a receptorai közvetítésével indít el valamilyen szignálfolyamatot, hanem önmaga is, receptorként képes szignált továbbítani az őt hordozó sejt belseje felé. Ez a folyamat a reverz jelátvitel.

Az utóbbi évek megfigyelései alapján nyilvánvalóvá vált, hogy a biológiai membránok az eddigi elképzeléssel ellentétben nem homogének. A foszfolipid kettősrétegben magas szfingolipid és koleszterintartalmú mikrodomének, úgynevezett lipid raftok helyezkednek el. A szignálutakban részt vevő, membránkötött fehérjék - receptorok és ligandok egyaránt - bizonyítottan a raftokon koncentrálnak és kommunikálnak egymással, és elindítják a sejt belseje felé vezető szignálutakat. A tmTNF jelátvitelben betöltött szerepét figyelembe véve gondoltuk azt, hogy ez a molekula is valószínűleg raft-asszociáltan helyezkedik el. Ezt a feltevésünket biokémiai módszerek segítségével vizsgáltuk meg, melynek eredményeit a dolgozatomban ismertetem.

IMMUN-11

Makrofágokhoz kötődött komplement-fragmentumok (C3b, C3d) exoszómákkal való leválásának vizsgálata

Végh Péter
II. évf. biológus
ELTE TTK Immunológiai Tanszék
témavezető: Erdei Anna, Dr. Prechl József

Az antigénbemutatás központi szerepet játszik az immunválasz megindításában. E folyamat során az APC-k (Antigen Presenting Cell) az antigént felveszik, peptidekre bontják, és a sejtmembrán MHCII molekuláin megjelenítik. Az MHCII/peptid komplexet a T_H-sejtek ismerik fel, aktiválódnak és így indítják el az adaptív immunválaszt. Ismert, hogy egyes sejtek (köztük az APC-k) ún. exoszómákat választanak ki környezetükbe. Ezek ~50-90 nm átmérőjű lipid kettősréteggel határolt vezikulumok, melyek a termelő sejt citoszolját tartalmazzák, és felszínükön számos sejtmembrán fehérje is megtalálható. Ismeretes, hogy az exoszómák képesek antigénprezentációra.

Korábban bizonyítottuk, hogy az APC-hez kötődő C3 fragmentumok elősegítik az antigénprezentációt. Jelen kísérleteinkben kimutattuk, hogy az APC-re szérumszuszpenzió hatására kötődő C3 idővel a felülúszóba kerül. P388D₁ egér sejt vonal makrofágjait savóval kezeltünk 1 óráig, majd mosás után RPMI médiumban inkubáltuk 1/2, 1, 2 és 3 óráig. Ezt követően a sejtek egy részét jelzett anti-C3 ellenanyaggal, áramlási citometriával (FACS) vizsgáltuk. A többi sejtet 1% TritonX PBS-sel lizáltuk, és a felülúszóhoz hasonlóan, ELISA segítségével vizsgáltuk. Eredményeink szerint a sejt felszínen levő C3 mennyisége csökken, míg a felülúszóban nő. Felmerült annak a lehetősége, hogy a sejtmembránról exoszómákhoz kötődve válnak le a C3-fragmentumok; ennek kimutatása érdekében elvégeztük a sejtek által leválasztott vezikulumok izolálását makrofágok savóval történő kezelése és 2 órás inkubációja után a sejtek felülúszójának 70000g-n való centrifugálásával. Elektronmikroszkópos vizsgálattal az üledékben exoszóma méretű vezikulumok jelenlétét mutattuk ki, és ELISA-módszerrel C3-at is detektáltunk ebben a frakcióban. Az eredmények arra engednek következtetni, hogy a sejtek által termelt exoszómák segítségével válnak le a C3 fragmentumok a sejtek felszínéről. Következő lépésként savóval kezelt és kezeletlen sejtek és az általuk termelt exoszómák antigén-prezentáló képességét vizsgáljuk.

IMMUN-12

Az első plazmatocita transzmembrán receptor azonosítása *Drosophilában* és szerkezeti homológjainak jellemzése

Zsámboki János
V. évf. biológus
SZTE TTK, MTA SZBK Genetikai intézete
témavezető: Dr. Andó István, Dr. Kurucz Éva

Minden többsejtű szervezet rendelkezik azzal a képességgel, hogy az egységének megbontására irányuló támadásokat a veszélyforrás (vírus, baktérium, gomba, többsejtű parazita, tumor) eltávolításával elhárítsa. A homeosztázist veszélyeztető elemek eltávolítása történhet bekebelezéssel és a támadó körüli tok képzésével. A testidegen szövetek és támadó mikroorganizmusok eltávolítását az élővilágban az ún. fagocita sejtek, gerincesekben az ún. granulociták és makrofágok *Drosophilában* az ún. plazmatociták végzik.

A plazmatociták a *Drosophila* sejt immunválaszában a mikroorganizmusok és apoptotikus sejtek bekebelezését és antimikrobiális peptidok termelését végző vörsejtek. Azonosításuk eddig kizárólag morfológiájuk és fagocita-funkciójuk segítségével történt. Laboratóriumunkban a molekuláris biológia és az immunológia eszköztárát használtuk a sejtek jellemzésére. Immunológiai markereket azonosítottunk, melyeknek jellemzése segíthet a plazmatociták immunológiai és általános biológiai szerepének megismerésében. A dolgozat témája az első, kizárólag a plazmatocitákra jellemző marker, egy transzmembrán fehérje, a P1 antigén molekuláris jellemzése.

A P1 fehérjét ellenanyagaink segítségével izoláltuk, az antigén tömegspektrográfias elemzését követően a fehérjét kódoló gént a *Drosophila melanogaster* 2. kromoszómájának bal karján azonosítottuk. A P1 fehérje a transzmembrán fehérjék jellegzetes szerkezetét mutatja: szignál peptiddel, extracelluláris régióval, transzmembrán régióval, és citoplazmás régióval rendelkezik. A P1 molekula extracelluláris régiója tíz EGF repeatet, és potenciális O- valamint N-glikozilációs helyeket tartalmaz, míg citoplazmás régiója potenciális Ser/Thr foszforilációs helyeket hordoz. Vizsgálataink szerint a P1 gén egy nagyobb, *Drosophilában* 11 szerkezeti homológot tartalmazó géncsoportban helyezkedik el, mely 11 gén közül öt transzmembrán fehérjét kódol. A szövetspecifikus expresszió vizsgálatának eredményei azt mutatják, hogy a gének többsége megnyilvánul a *Drosophila* véresejtjeiben. A szerkezet – funkció kapcsolatának tisztázásához szükséges funkcióvesztéses mutánsok izolálása folyamatban van.

A géncsoport valamennyi tagja egy nagyobb géncsaládba tartozik melynek *Anopheles*-homológjai, a *Drosophilához* hasonlóan, egymás tőszomszédságában elhelyezkedve egyetlen géncsoportot képeznek. A géneknek - az *Anopheles*-homológok mellett - *Bombyx*, *Sarcophaga*, *Coenorhabditis*, egér, és emberi homológjait azonosítottuk.

MIKRO-1

Talaj kőolaj-szennyeződésének lebontása biotechnológiai eljárással

Dergez Ágnes Karolina

V. évf. biológus

SZTE TTK; Bay Zoltán Alkalmazott Kutatási Alapítvány Biotechnológiai Intézet

témavezető: Dr. Mécs Imre, Dr. Perei Katalin

A kísérlet célja az volt, hogy megnöveljük a kőolajbontás sebességét szennyezett talajban. Az olajbontáshoz baktériumokat izoláltunk az olajpar területéről, és kiválasztottunk nyolc jó olajbontó képességűt. Ezek a baktériumok aerobok, illetve fakultatív anaerobok, de a lebontáshoz oxigénben gazdag környezetet igényelnek. Ilyen körülmények között a lebontás mértéke megnő. Ezért a talaj, mint környezet oxidáló képességét kell növelni, amit növényi segítséggel szeretnénk volna elérni. A növény gyökerében peroxidokat és peroxidázt termel, és ezt a talajba juttatva nő annak oxidáló képessége.

A kísérlet során a kőolajjal szennyezett talajt hexadékanal kevert homokkal modelleztük. A homokszemcséken a hexadékan jobban adszorbeálódik, mint nedves összetapadt talajban, így egyenletesebben lehet elosztatni a hexadékant, ráadásul a kísérlethez használt növény, az *Arundo donax* L. számára is megfelelő környezet a homok.

A hexadékan sokkal jobban monitorozható a többféle összetételű kőolajnál, így csökkenése jól követhető Infracal készülékkel, és gázkromatográfia.

Az olasz nád nem magas tápigényű, és nagy gyökérzetével képes nem kötött talajban is, mint a homok megmaradni. Bár vízben, illetve vízparton él, képes elviselni az átmeneti szárazságot is. Fagyűrő képessége is jó, és bizonyos mértékig sótűrő is, így alacsonyabb só-koncentrációjú tengerparti területeken is ültethető.

Egyrészt ezen igen jó ellenálló képessége miatt választottuk ezt a növényt a kísérlethez, másrészt mert már bevált más fitoremediációs eljárásokban is (mivel a szennyező anyagokat (fémeket) nagy hatékonysággal képes felvenni), ráadásul könnyen szaporítható sejtenyésztes módszerrel.

A kísérlet során minimál tápfolyadékkal locsoltam, mert a homok nem gazdag tápanyagokban, és mind a növényeknek, de főleg a baktériumoknak szüksége van nitrogén, foszfor, kalcium, magnézium, és más mikroelem forrásra is.

A kísérleti összeállítás lehetővé tette, hogy összehasonlítsam a különböző bioremediációs eljárások lebontási sebességét, úgymint a természetes attenuációt, a bioaugmentációt, a fitoremediációt és a rhizoremediációt.

MIKRO-2

A bükk (*Fagus sylvatica*) egy *Lactarius*-fajjal képzett ektomikorrhizája és egy intracelluláris kolonizáló tömlősgomba közötti hármass együttélés morfológiai és molekuláris taxonómiai jellemzése

Erős Zsolt

2004. biológus

ELTE TTK Növény-szervezettani Tanszék

témavezető: Dr. Jakucs Erzsébet

A bükki Őserdő erdőrezervátum ektomikorrhiza-közösségének vizsgálata során nagy gyakoriságban találtunk egy, az irodalomból eddig nem ismert tejelőgomba (*Lactarius*-) ektomikorrhizát, amelynek anatómiai-morfológiai vizsgálata során rendszeresen tapasztaltunk intracelluláris tömlősgomba-kolonizációt a gombaköpennyel borított gyökér kortikális sejtjeiben.

A mikorrhiza-morfológia jellemzésére sztereomikroszkópos, differenciál-interferenciakontraszt mikroszkópos (Nomarski – DIC), fáziskontraszt mikroszkópos (PC) és transzmissziós elektronmikroszkópos (TEM) vizsgálatokat alkalmaztunk, majd a leírást hisztokémiai reakciókkal egészítettük ki. Az ektomikorrhizas gombapartner taxonómiai helyzetének megállapításához a magi riboszomális gén ITS szakaszát erősítettük fel polimeráz láncreakció (PCR) segítségével, gombaspecifikus primereket használva, majd szekvenáltuk az említett génszakaszt. A közel álló szekvenciákat a GenBank adatbázisból BLAST módszerrel kerestük ki, majd illesztést végeztünk a ClustalX program felhasználásával. A filogenetikai értékelést PAUP 4.0* programcsomaggal hajtottuk végre mind távolság alapú (neighbour joining) mind pedig karakter alapú (parszimóni elven alapuló) metódusok alkalmazásával.

A fésűs-piramidális elágazásrendszerű, sárga színű, sima felszínű ektomikorrhiza külső köpenyrétege pszeudoparenchimatikus-anguláris, belső rétege plektenchimatikus szerkezetű. A kevésbé differenciált rhizomorfiákon kívül nem találtunk kiágazó struktúrákat. Morfológiai tulajdonságai alapján a mikobionta a *Lactarius* nemzetség *Russularia* alnemzetségének tagja, amit a molekuláris eredményeink is alátámasztanak.

Az ektomikorrhiza különböző szakaszaiból készített félvékony hosszsmetszeteken, a Hartig-hálóval körbevett sejtek rétegén belül rendszeresen találtunk intracelluláris, a kéregsejteket kolonizáló hifákat, melyek alkatani bélyegeik alapján nagy valószínűséggel egy tömlősgomba (*Ascomycota*) hifái. A vastag, erősen fénytűrő falú gombafonalak több helyen áttörnek a köpenyt, ezért a felszíni rétegből készült preparátumokon is megfigyelhetők. Hasonló, sejten belüli kolonizáló aszkuszos gomba jelenlétét eddig már más *Lactarius* ektomikorrhizákban is kimutatták, ám hazánkban mi figyeltük meg jelenlétüket elsőként.

MIKRO-3

Madár patogén *Escherichia coli* virulencia tulajdonságai

Koscsó Balázs
V. évf. biológus
ELTE-TTK, Mikrobiológia Tanszék
témavezető: Dr. Tóth István

A madarakat megbetegítő, ún. avian patogén *E. coli* (APEC) elsősorban légzőszervi megbetegedést, pericarditist és szepszist okoz. Az APEC törzsek jellegzetes virulencia faktorokat termelnek, melyek nem fordulnak elő az egészséges állatokból izolált törzsekben. A patogén törzsek gyakran termelnek adhezint (I típusú, P- és curli fimbria) hőérzékeny hemagglutinint (T_{SH}), és hordoznak *colV* plazmidot, ami gyakran aerobactin termelést is meghatározza. Az APEC törzsek jellegzetes szerocsoportúak (O1, O2, O35 és O78) és gyakran rendelkeznek (K1) kapszulával. Mivel madár eredetű törzsek virulencia faktorairól hazai vonatkozásban nem álltak rendelkezésünkre molekuláris epidemiológia adatok, ezért célunk volt csirkékből és növendék pulykákból izolált extraintesztinális (n=106) és intesztinális (n=43) APEC izolátumok geno- és fenotípusos, elsősorban colicin és hemolizin termelésre kiterjedő vizsgálata.

Az intesztinális (I) és extraintesztinális (Ex) izolátumokat számos közös gén jellemezte, bár a legtöbb gén magasabb gyakorisággal fordult elő az Ex törzsekben. Az I törzsek 100%-a, és az Ex törzsek 84 %-a rendelkezett az I típusú fimbria marker génjével a *fimH*-val. Gyakran volt kimutatható a *tsh* gén (I: 62%, Ex: 87 %), az *aerJ* (aerobactin receptor) gén (I: 81 %, Ex: 99 %), az ún. „yersinia high pathogenicity island”-t jelölő *fyuA* (yersiniabactin receptor) gén (I: 54%, Ex: 63%), és colicin termelés is. Viszont a P fimbriát kódoló *papC* gén (8,2%), és a citoletális duzzasztó (distending) toxin (CDT) (8,2%) már csak az extraintesztinális törzseket jellemezte. A CDT -IV típusú törzsek olyan szerocsoportokba (O115, O53) tartoztak, melyeket eddig a madár patogének között nem tartottunk számon. Ezek a törzsek két új klónt képeztek. Egységesen rendelkeztek (7/7) ugyanis a *fyuA*, *aerJ*, *traT*, *fimH* génekkel, viszont csak az O115 törzsek termeltek colicint (5/5), és csak az O53 (2/2) törzsek hordozták a *tsh* gént.

Összegezve, a hazai csirke és pulyka eredetű extraintesztinális izolátumokból az eddig ismert jellegzetes baromfi virulencia faktorok mellett kimutattuk a CDT-t is, ezen CDT⁺ törzsek két jellegzetes új klónt képviselnek. A virulencia gén mintázatok alapján úgy tűnik, hogy a vizsgált APEC törzsek nem bírnak zoonotikus jelentőséggel.

MIKRO-4

Halogénezett alifás szénhidrogének által szennyezett talajvizek *Archea* diverzitásának változása

Mészáros Éva
IV. évf. biológus
ELTE TTK Mikrobiológiai Tanszék
témavezetők: Dr. Révész Sára, Romsics Csaba

A halogénezett szénhidrogének gyakori talajvíz-szennyezők Magyarországon. A szennyezőanyagok biológiai lebontásának egy lehetséges megoldása a mikrobák anyagcsere-folyamatainak felhasználása in situ kármentesítés céljából. A biodegradáció elősegítésére különböző adalékanyagokat alkalmaznak, melyek a mikroorganizmusokat serkentik, így gyorsabb lebontást érhetnek el. Az egyik megközelítés a részt vevő mikroorganizmusok elektrondonorral való ellátása, melyek esetünkben a metanol, a laktát és a melasz voltak. Három kút vizsgáltunk, egy magas szulfát tartalmú (KEW7) és két alacsony szulfát tartalmú, melyek közül az egyik 18m (JEW18), míg a másik 12m mély (JW18/2).

Munkánk célja volt, hogy összefüggést találjunk a talaj és a talajvíz kémiai paraméterei és az ott található *Archea*-közösség összetétele között a különböző területekről vett minták analitikai és mikrobiológiai elemzése alapján.

A talajvízből közösségi DNS-t izoláltunk, melyből a 16S rDNS egy szakaszát *Archea* specifikus primerekkel felszaporítottuk. Ezután a kapott PCR termékek diverzitását DGGE-vel (denaturáló grádiens gél-elektroforézis) vizsgáltuk. A kapott mintázatot Phoretix program segítségével elemeztük és dendrogramot készítettünk. A gélből csíkokat vágunk ki fajazonosítás céljából.

A távolságmátrixon a JW18/2 kút mintái szépen elkülönülnek a másik két kút mintáitól. A KEW7 kút metanolos és 0. napos mintái alkotnak egy beiső csoportot, ezt alátámasztják a kémiai eredmények is. A melaszos kezelésű minta jelentősen eltér ettől a csoporttól. Ezen mikrokozmosz kémiai paraméterei is eltértek a többitől, hiszen a melasszal nagy mennyiségű szerves anyagot viszünk be a rendszerbe, amittől megindulhatnak egyes biológiai folyamatok.

A JEW18 kút mintáinál az látható, hogy a KEW7 mintái körül található szétosztottan, de elkülönülten a kezeletlen és a 0. napos mintától. Ezt azzal magyarázhatjuk, hogy ezen kút esetében szűrt vizet vizsgáltunk, amiből nehezen tudunk DNS-t izolálni, a kis koncentrációjú DNS vizsgálata pedig torzíthatja a valós diverzitást.

A JW18/2 kút kiindulási mintája elkülönül a mikrokozmosz mintáktól. Legközelebb hozzá a metanolos kezelésű minta található, majd a melaszos és egészen külön csoportot alkot a laktátos. A metanolos, a kiindulási és kezeletlen minták kémiai paraméterei hasonlóak voltak, míg a másik két kezelésű minta ezen paraméterei jelentősen eltértek. A kémiai vizsgálatok alapján a laktátos kezelés bizonyult a legjobbnak és ezt támasztja alá a biológiai elemzés is.

MIKRO-5

Mikotoxinok biológiai detoxifikációja és toxin-bontó mikroorganizmusok jellemzése

Péteri Zsanett, Tábori Katalin
2004. biológus, V. évf. biológus
SZTE TTK Mikrobiológiai Tanszék
témavezetők: Dr. Vágvölgyi Csaba, Dr. Varga János

A mezőgazdasági termékek mikotoxin szennyezettsége világszerte súlyos egészségügyi problémákat okoz. Számos kémiai és fizikai eljárást fejlesztettek ki mikotoxinok eltávolítására állati takarmányokból, ezen eljárások hatásfoka azonban változó. Egy másik lehetőség mikroorganizmusok, vagy az általuk termelt enzimek alkalmazása mikotoxinok detoxifikációjára.

Munkánk során fonalas gombák (*Aspergillus*, *Rhizopus*, *Rhizomucor*, *Actinomucor*, *Micromucor* és *Mucor* fajok) ochratoxin-bontó képességét vizsgáltuk. A vizsgált fajok közül egyes *Rhizopus stolonifer*, *R. microsporus*, *Mucor plumbeus*, *Actinomucor elegans*, *Rhizomucor miehei* izolátumok és *Aspergillus niger* faj volt képes az ochratoxin A bontására. Az ochratoxin A-detoxifikációs kinetikát különböző technikákkal tanulmányoztuk (vékonyréteg kromatográfia, immunokémiai technika). A *Rhizopus* fajok csak részben voltak képesek lebontani az ochratoxin A-t tíz nap alatt. Modellkísérletben vizsgáltuk három izolátum (*A. niger*, *R. stolonifer*, *R. microsporus*) ochratoxin-bontó aktivitását búzán is. A *Rhizopus*-fajok minimális vízaktivitás igénye 0,93, viszont a két *Rhizopus* izolátum közül csak az egyik volt képes lecsökkenteni a toxintartalmat a búzában. Kísérleteink során az alkalmazott paraméterek mellett csak a *R. stolonifer* izolátum volt képes az ochratoxin A lebontására ezen a szubsztráton. Az eredményeink azt jelzik hogy ezen fajokat vagy enzimeiket fel lehetne használni mezőgazdasági termékek ochratoxin-mentesítésére alacsony vízaktivitás mellett is.

Kísérleteink során toxin-termelő fajokat is vizsgáltunk zöld kávémintákról, a kávé mintákról főleg *Aspergillus*, *Penicillium* és *Cladosporium* fajokat izoláltunk. Az *Aspergillus* izolátumok közül kerültek ki ochratoxin-termelő fajok, főleg *Aspergillus niger* és *Aspergillus ochraceus* bizonyult toxintermelőnek. A kávémintákról izolált *Aspergillus* törzsek OA-termelő képességének meghatározásához a TOXIKLON OCHRATOXIN-A reagenskészletet használtuk.

Vizsgáltuk más mikotoxinok, így az aflatoxin B1, zearalenon és patulin mikrobiális detoxifikálását is. A vizsgált izolátumok közül egyik sem volt képes az aflatoxin lebontására, a zearalenont és patulint azonban számos *Rhizopus* izolátum képes volt lebontani folyékony tápközegben.

További vizsgálatok folyamatban vannak annak érdekében, hogy azonosítsuk azon enzimeket illetve ezek génjeit, melyek az ochratoxin A detoxifikációjáért felelősek (pl. karboxipeptidáz).

MIKRO-6

A *Helicobacter pylori* infekció diagnosztikus lehetőségei

Pintér Rita
2004., orvosdiagnosztikai laboratóriumi analitikus
PTE Egészségügyi Főiskolai Kar
témavezető: Dr. Kovács Zsuzsanna, Dr. Tóth Csaba

Napjainkra a *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) kóroktani szerepe nyilvánvalóvá vált a gyomor-bélrendszeri megbetegedések kapcsán. A baktérium patológiai szerepének megismerésé megváltoztatta az emésztőrendszer felső szakaszán megjelenő betegségek kóroktanával, diagnosztikájával és kezelésével kapcsolatos korábbi nézeteket. 1991-ben Parsonnet és munkatársai vetették fel először gyomorrákos betegek szerológiai vizsgálata alapján a *Helicobacter pylori* és a gyomorrák közötti összefüggés lehetőségét. A megismert epidemiológiai és egyéb adatok alapján az IARC (International Agency for Research on Cancer) 1994-ben a *Helicobacter pylori*-t az I. csoportba tartozó karcinogének közé sorolta. Mivel több betegség kialakulásához bizonyítottan hozzájárul a kórokozó jelenléte, különösen fontosnak tartom a korai diagnózis szerepét. A baktérium jelenlétének igazolását szolgáló módszerek érzékenysége, specificitása és alkalmazási köre eltérő.

55 betegnél elvégzett két invazív és egy nem invazív eljárás segítségével tájékozódtam. Minden betegnél az endoszkópos vizsgálaton kívül ¹³C-urea kilégzési teszt történt. Az oesophago-gastro-duodenoscopy során legalább 2-2 minta vételére került sor, az antrum és a corpus területéről. 1-1 szövettani és 1-1 gyors ureáz teszthez, 1-1 pedig a szövettani feldolgozáshoz volt szükséges.

A szövettani meghatározás során minden biopsziás mintából Warthin-Starry ezüst impregnációs eljárás és módosított Giemsa festés történt, illetve esetenként immunhisztokémiai meghatározásra is sor került.

A szövettani vizsgálat szenzitivitása: 100%, specificitása: 96%, a gyors ureáz teszt érzékenysége: 74%, specificitása: 96%, a kilégzési teszt szenzitivitása: 77%, specificitása: 96%. A pozitív prediktív érték mindhárom esetben 97%.

Előadásom célja ezeknek a módszereknek a bemutatása, illetve diagnosztikus értékükről adatokat nyerni és meghatározni alkalmazási körüket.

MIKRO-7

Tiszántúli szikes tavak baktériumközösségeinek tenyésztésen alapuló összehasonlító vizsgálata

Pollák Beatrix
IV. évf. biológus
ELTE TTK Mikrobiológiai Tanszék
témavezető: Dr. Borsodi Andrea

A szigorúan védett szikes élőhelyek kiemelkedő jelentőségű természeti értéket képviselnek egyedülálló geológiai, hidrológiai, botanikai és zoológiai sajátosságainak köszönhetően. Hazánk legnagyobb összefüggő szikes térsége a Tiszántúlon található, melynek sekély vizű szikes tavait viszonylag alacsony ionkoncentráció (elsősorban nátrium és hidrogénkarbonát), lúgosság, sófelhalmozódás, nagyfokú egyedi és szezonális változatosság jellemzi. Vizsgálataink során a mikrobiológiai szempontból még teljesen feltáratlan Tiszavasvári közelében fekvő Fehér-szik és a Nyíregyháza melletti Nagy-Vadas-tó baktériumközösségeinek megismerését, metabolikus és faji diverzitásának feltárását tűztük ki célul.

Az üledékfelszíni mintákból széleskörű eljárással több mint 400 baktériumtörzset izoláltunk a specifikus környezeti feltételek figyelembevételével kiválasztott táptalajokról. A baktériumtörzsek közül a morfológiai csoportosítást követően 98 törzs részletes fenotípusos jellemzését végeztük el. A hierarchikus cluster analízissel kialakított csoportokból kiválasztott törzseket ARDRA mintázatuk alapján tovább csoportosítottuk, majd a reprezentatív törzsek faji szintű identifikációját 16S rDNS-ük parciális szekvencia analízisére alapoztuk.

Mindkét tó esetében a kitenyészített baktériumok többsége Gram-pozitív festődéssel, respiratórikus anyagcserével és a biopolimerek kismértékű bontásával volt jellemezhető. A Fehér-szik mintáiból emellett számos spóráképző szervezetet, míg a Nagy-Vadas-tóból nagyszámú lassú fermentálót izoláltunk. A tavak filogenetikai diverzitását mutatja, hogy sikerült azonosítanunk obligát alkalofil és alkalitoleráns *Bacillus*, továbbá halotoleráns *Nesterenkonia* és *Kocuria* fajokat, valamint *Microbacterium*, *Planococcus*, *Sporosarcina*, *Novosphingobium*, *Hydrogenophaga*, *Pseudomonas* és *Shewanella* nemzetségek képviselőit. Több esetben az alacsony szekvencia hasonlóságok (94-95%) alapján feltételezhető, hogy ez idáig ismeretlen, új taxonokat tudunk tenyésztésbe vonni.

A numerikus analízissel mindkét tóban hasonló metabolikus aktivitású csoportokat különítettünk el, melyeket azonban különböző nemzetségek tagjaiként identifikáltunk. Ez arra utalhat, hogy az egymástól földrajzilag viszonylag távoli tavak hasonló ökológiai nicheit feltehetően hasonló metabolikus aktivitású, de eltérő fajok népesítik be. Eredményeinket más magyarországi szikes tavak bakteriológiai vizsgálataival összevetve a tiszántúliak jellegzetes elkülönülését tapasztaltuk.

MIKRO-8

A *Phaffia rhodozyma* (*Xanthophyllomyces dendrorhous*) karotinoid mutánsainak kémiai és biológiai jellemzése

Poór Viktor Soma
V. évf. biológus
PTE TTK Általános és Környezet Mikrobiológiai Tanszék
témavezető: Dr. Pesti Miklós, Blaskó Ágnes

A *Phaffia rhodozyma* (teleomorf alakja: *Xanthophyllomyces dendrorhous*) élesztő piros színét az általa termelt karotinoidoknak köszönheti. Ezen karotinoidok közül az astaxanthint (3,3' - dihydroxy - β, β - carotene - 4,4' - dione), igen erős antioxidáns hatása miatt, az utóbbi években fokozott érdeklődés kíséri. Az astaxanthint jelenleg nagy mennyiségben alkalmazzák lazac aquakultúrákban táplálék kiegészítőként, illetve antioxidáns hatása miatt jelentős lehet a humán egészségügyi felhasználása is. Gazdasági értéke is igen nagy, éves kereskedelme elérheti a 100 millió dollárt is. Mivel a vad törzsek astaxanthin termelő képessége relatíve alacsony, fontos feltérképezni, milyen módokon növelhető a produkció.

A kísérletek során a *Xanthophyllomyces dendrorhous* astaxanthin termelő mutánsaival dolgoztam. Az öt törzs egy szülői törzsből és az abból képzett mutánsokból állt. A vizsgált törzsek eltérő karofin termelését szabad szemmel is jól látni, színük a fehértől a mély narancsig terjed. A pontos karotinoid minőségi és mennyiségi meghatározása HPLC alkalmazásával történt.

A kísérletek gerincét az egyes mutáns törzsek különböző stresszorokkal való kezelésére adott válaszok alapján jellemeztem. A kísérletek során igyekeztem meghatározni, milyen mértékben és hogyan befolyásolják az eltérő karotinoid szintek az élesztő túlélőképességét. Meghatároztam a törzsek minimális gátló koncentrációját számos stresszorra.

Külön figyelmet szenteltem a kadmiummal szembeni ellenállóság vizsgálatára. A kadmium egy toxikus nehézfém, melynek vizsgálatát a növekvő környezeti terhelés teszi indokolttá. Itt két fő módszert alkalmaztam. Egyrészt felvettem a pusztítási görbéket különböző koncentrációjú kadmium oldatokkal történő kezelés után. Ezt elvégeztem kezeletlen és szubletális koncentrációjú kadmium oldattal történt előkezelés után is.

A másik módszer szerint az élesztősejteket különböző, szubletális koncentrációjú kadmiumot tartalmazó táptalajban tenyésztettem, majd ezen előkezelés után HPLC analízis segítségével meghatároztam, milyen módosulások történtek a termelt karotinoidok arányaiban.

MIKRO-9

Fémzennyezések hatása eltérő genetikai típusú talajok enzimaktivitására.

Szabó Csilla

V.évf. biológus

PTE TTK Általános és Környezeti Mikrobiológiai Tanszék

témavezető: Dr. Árvay Gyula, Czakóné Dr. Vér Klára

A nehézfém szennyezés mind környezetvédelmi, mind egészségügyi szempontból egyre súlyosbodó problémát jelent. Mivel a talaj meghatározó szerepet játszik a földi ökoszisztémákban, ezért a benne felhalmozódó perzisztens toxikus fémek semlegesítése meghatározó a környezeti kockázat csökkentése szempontjából. A fémek biológiailag nem lebonthatók, immobilissá tételük a mikrobák általi bioremediációval és a növények segítségével megvalósuló fitoremediációval érhető el.

Dolgozatom célja, megállapítani, hogy a talajok természetes mikroflórája hogyan reagál a fémzennyezésekre, és hogy a talaj fizikai-kémiai tulajdonságától függően változik-e a talaj mikrobiológiai aktivitása. További célunk annak megállapítása, hogy a különböző fémek növekvő terhelései hatására hogyan változik a genetikailag eltérő talajok foszfatáz-enzimaktivitása, és ennek függvényében alkalmas-e a módszer a talajba jutó szennyezőanyagok ökoszisztémára gyakorolt toxikus hatásának vizsgálatára, az EU-ban (OECD) már standardként elfogadott dehidrogenáz-enzimaktivitási és respirációs mérésekhez képest. Ezenkívül arra is választ kerestünk, hogy az oxidoreduktázok vagy a hidrolázok érzékenyebbek a szennyeződésekre.

A laboratóriumi modell-kísérletet kovárányos rozsdabarna erdőtalajon, mészlepedékes csernozjomon és karbonátos réti csernozjom talajon állítottuk be. A talajmintákat Magyarország három különböző TIM pontjáról gyűjtöttük be (Vajszló, Dunaszekcső, Debrecen). Ezen talajok fizikai-kémiai adatai ismertek, melyeket a Baranya Megyei Növény- és Talajvédelmi Szolgálat Talajbiológiai Laboratóriuma bocsátott rendelkezésemre. A talajba juttatott nehézfémek Cu^{2+} és Ni^{2+} különböző vízben oldható vegyületei voltak: $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Koncentráció: $39,29\text{g}/100\text{cm}^3$) és $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Koncentráció: $40,50\text{g}/100\text{cm}^3$). A kezeléseket 0, 50, 200 és 800 kg/ha fémterhelésnek feleltek meg, mely dózisokat a különböző fizikai féleségű talajok Arany-féle kötöttségi számának megfelelő vízmennyiség 40%-ával juttattuk ki. A vizsgálatokat a kezeléstől számított 0., 7., 14., 28. napon végeztük. A talajok foszfatáz aktivitását a p-nitro-fenil-foszfat szubsztrátból enzim által katalizált reakció eredményeként felszabadított p-nitro-fenol spektrofotometriás mérésével határoztuk meg Tabatabai-Bremner módszerével, Spekol-10-es spektrofotométeren mérve. Az eredményeket 1g p-nitro-fenol/ 1g talaj/ 1 óra ban adtuk meg. A dehidrogenáz-enzimaktivitást az MSZ-08-1721/3-86-os szabvány alapján, JascoV-530PC UV/VIS félautomata spektrofotométer segítségével határoztuk meg és mg formazán/ 1g talaj/ 24 óra értékben adtuk meg. A CO_2 produkció meghatározását az OECD GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS. Soil microorganisms: Carbon Transformation Test 217. (21st January 2000.) alapján végeztük el és mg CO_2 / 100 g talaj/ 1 óra mértékegységben fejeztük ki. A modell-kísérletet három ismétlésben állítottuk be.

A kiértékelésnél a mért extinkció értékekből a legkisebb négyzetek módszerét alkalmazó program segítségével számoltuk ki az egyes bemérések 1g eredeti nedvességű talajra vonatkozó enzimaktivitást.

A vizsgálatok során kapott eredményekből az alábbi megállapításokat tesszük: (a) A foszfatáz-enzimaktivitás változásának mérése alkalmas a fémzennyezések jelzésére. (b) A dehidrogenáz-enzimaktivitás érzékenyebben reagált a fémzennyezésekre, mint a foszfatáz enzimaktivitás. (c) A területegységre számolt réz-terhelések nagyobb toxicitást okoztak, mint a nikkel-terhelések mindkét enzim esetében. (d) A fémzennyezések dózisának növekedésével ha nem is arányosan, de erősen változtak az enzimaktivitási értékek.

MIKRO-10

Aromás szénhidrogének lebontásának vizsgálata, a lebontás kulcsenzimeinek (C12O és C23O) aktivitásvizsgálata

Táncsics András

IV. évf. biológus

ELTE TTK Mikrobiológiai Tanszék

témavezető: Dr. Révész Sára

Mai világunkban a kőolaj nagyfokú felhasználásnak egyenes következménye, hogy a kőolajjal, illetve a kőolajszármazékokkal nagymértékben szennyezzük környezetünket. Ez többek között azért is probléma, mivel a kőolaj nagy mennyiségben tartalmaz olyan toxikus vegyületeket, mint amilyenek például a monociklusos aromás vegyületek.

Az aromás gyűrű biológiai bontása kétféle útvonalon valósulhat meg: az „orto” és a „meta” útvonalon. Mindkét anyagcsere útvonal közös köztes terméke a katekol, amelynek aromás gyűrűje a lebontás következő lépésében felhasad. Az „orto” útvonal esetében ezt a reakciót a katekol 1,2-dioxigenáz enzim katalizálja, míg a „meta” útvonal esetében ezt a feladatot a katekol 2,3-dioxigenáz látja el. Mivel az említett enzimek termékei, illetve ezek keletkezése fotometriásan detektálható, az enzimek aktivitása mérhető, és ezáltal a törzsek lebontási képessége jellemezhető.

Ilyen tulajdonságokkal rendelkező baktériumok izolálása volt a cél a BKV Rt. Budai járműjavítójánál vett talajmintákból. A minták, amelyeket 4 méteres mélységből vettünk, közepesen, valamint erősen szennyezettek voltak kenőolajjal és gázolajjal. A minták összes szénhidrogén tartalma 698 mg/kg és 10600 mg/kg között volt (kontroll minta: $<50\text{ mg/kg}$). A mintákból gázolajos dúsító táptalajon törzseket izoláltunk. A vizsgálatokhoz azokat a törzseket választottuk ki, amelyek a legígéretesebbnek mutatkoztak arra, hogy a BTX-vegyületeket egyedüli szénforrásként hasznosítani tudják, majd a 16S rDNS-ük alapján identifikáltuk őket. A *Rhodococcus erythreus*, a *Stenotrophomonas maltophilia*, a *Streptomyces lateritius*, a *Microbacterium oxydans* és egy *Janthinobacterium* törzs nagy benzol, toluol vagy xilol koncentrációt is képesek voltak tolerálni és ezen vegyületeken növekedni. A dioxigenáz enzimek aktivitásának mérését három törzs esetében végeztük el, amelyeket benzollal, illetve toluollal inkubáltunk, és az alábbi „erősorrendet” sikerült felállítani köztük: *R. erythreus* > *M. oxydans* > *Janthinobacterium* sp. a benzollal történő inkubáció során, illetve *M. oxydans* > *R. erythreus* > *Janthinobacterium* sp. a toluollal történő inkubáció során. Az eredményekből az is látható, hogy ezen törzsek esetében a benzollal és a toluollal történő indukció során kizárólag az „orto” útvonal aktiválódik.

MIKRO-11

Respiratórikus kinonanalízis standardizálása ökológiai vizsgálatokra és velencei-tavi üledékek mikrobiális közösség-összetételének felmérése

Tauber Tamás
2004, biológus
ELTE TTK Mikrobiológiai Tanszék
témavezető: Dr. Tóth Erika

A baktériumok és eukarióták membránkapcsolt elektrontranszportjában részt vevő különféle kinonok polizoprén láncuk hosszára és telítettségi fokára nézve variábilisak, és jellemzőek az adott szervezetre. Ugyanezen tulajdonságuk alapján kromatográfiásan elválaszthatók. Alkalmasságuk tehát kemotaxonomiai markerként való felhasználásra. Munkánk célja egyrészt egy talajok és üledékek mikrobaközösségeinek membránkinonokon alapuló kemotaxonomiai vizsgálatára alkalmas módszer beállítása volt, amihez különböző helyekről származó és eltérő fizikai-kémiai paraméterekkel rendelkező talaj-, illetve üledékmintákat használtunk. Másrészt a Velencei-tó különböző pontjairól vett minták kinonprofilját vizsgáltuk ezen eljárás segítségével egy nyári és egy őszi mintavételt követően.

A zsirolékony anyagokat diklór-metán : metanol elegyével extraháltuk a talajokból, majd szilikagél alapú oktadecil oszlopon szeparáltuk a kinonokat a hidroxizsír-savaktól és foszfolipidektől. A kinontartalmú frakciót vékonyrétegen tisztítottuk tovább. A rétegről visszanyert kinonokat acetonitril : izopropanol 65:35 eluens használata mellett magas nyomású folyadék kromatográfiával vizsgáltuk.

A különböző környezeti minták között jelentős különbséget tudunk tenni kinonprofiljuk alapján, s e különbségek jó része könnyen értelmezhető volt ismerve a mintázott élőhelyek makromorfológiai sajátosságait és számos kémiai paraméterét, valamint az irodalomban szereplő különböző kinonok potenciális termelőit a mikrobák köréből. Így például magas nitrát-koncentrációjú, vagy magas kén-tartalmú talajok illetve üledékek kinonspektruma több szempontból összhangot mutatott az ilyen élőhelyeket preferáló, ismert mikroorganizmusok kinonkészlete alapján várható képpel.

A velencei-tavi nyári minták esetében az üledékek kinonok szerinti hasonlósága szoros összefüggést mutat a helyszínek makromorfológiai sajátosságaival. Őszre ez az egyezés megszűnt: hosszú, telített láncú menakinonokban dúsultak fel az üledékek, ami szaprotróf aktinobaktériumok elszaporodását indikálhatja. A változások mértékében a különböző jellegű élőhelyek között eltéréseket tapasztaltunk. Ezen mintáink tér- és időbeli eltérései sűrűbb mintavételezés és hosszabb távú megfigyelés szükségességét húzzák alá.

MIKRO-12

Sarjadzó gombák hemolitikus aktivitásának vizsgálata klinikai mintákból.

Tóth Beáta
IV.évf. biológus
DE OEC Orvosi Mikrobiológiai Intézet
témavezető: Dr. Majoros László

A sarjadzó gombák által okozott humán fertőzések száma az utóbbi két évtizedben jelentősen megnövekedett. A kítűnő farmakokinetikával rendelkező fluconazol bevezetése a terápiás gyakorlatba csökkentette a legvirulensebbnek tartott *Candida albicans* által okozott invazív fertőzések számát, bár a nem-*C. albicans Candidák* által okozott fertőzések száma ezen időszak alatt nőtt. A sarjadzó gombák ép immunrendszerrel rendelkező egyénekben ritkán okoznak súlyos fertőzést, az immunrendszer károsodása esetén életet veszélyeztető infekciók következhetnek be. A legvirulensebbnek tartott *C. albicans* az eddig tanulmányozott virulencia faktorok (hifa- és csiratömlő képzése, aspartil proteáz, foszfolipáz, koaguláz, hemolízis) többségével rendelkezik. Kevésbé ismertek a nem-*C. albicans Candida* speciestek virulencia faktorai.

Ezek alapján célunk az volt, hogy klinikai mintákból izolált sarjadzó gombák hemolitikus aktivitását tanulmányozzuk és megismerjük az egyes fajok képességét a növekedésükhöz szükséges Fe^{++} megszerzéséhez.

Tizenhat fajhoz tartozó, 174 darab, klinikai mintából származó sarjadzó gombát vizsgáltam, melyből 49 darab vérből származott. A hemolízis vizsgálatát marhavért tartalmazó Saboraud-lemezagaron végeztem. A kifejlődő hemolitikus aktivitást 24, 48 ill. 72 óra múlva határoztam meg.

Eredményeink azt mutatják, hogy a sarjadzó gombák többsége képes *in vitro* a hemoglobint bontani és az így nyert vasat felhasználni. Korábbi eredmények ellenére a hemoglobin teljes bontását figyeltük meg a *C. parapsilosis*, a *C. famata* és a *C. rugosa* törzsek esetében. Először tanulmányoztuk a *C. inconspicua*, a *C. sake*, *C. norvegensis*, a *C. pulcherrima*, a *C. lipolytica* és a *C. neoformans* törzseket, melyeknél béta hemolitikus aktivitást tapasztaltunk. A vérből izolált sarjadzó gombák hemolitikus aktivitása és az egyéb mintákból izolált fajok hemolitikus aktivitása között lényeges különbséget nem találtunk.

A nem-*C. albicans Candidák* által okozott candidémiák mortalitása 50-100 % között lehet immunkárosodott betegek esetében. Az általunk kapott eredmények segíthetnek az immunkárosodott betegeket veszélyeztető sarjadzó gombák pathogenezisének megértésében, hiszen a virulencia faktorok hiánya vagy kisebb mértékű termelése esetén a sarjadzó gombák túlélése *in vivo* is lehetséges.

MIKRO-13

Schizosaccharomyces pombe lipid peroxid toleráns mutáns izolálása és jellemzése

Tóth Dániel Márton

V. évf. biológus

PTE TTK Általános és Környezeti Mikrobiológiai Tanszék

témavezető: Dr. Pesti Miklós, Gazdag Zoltán

Napjaink egyik kiemelt kutatási területe a sejtek szabadgyökök, oxidatív stresszorok elleni védelmi rendszereinek kutatása, mely enzimek és fehérjék, mint antioxidánsok vesznek részt ebben a védelmi mechanizmusban. Kiemelten fontos maguknak a szabályozó rendszereknek a megismerése, egyes transzkripciós faktorok szerepe. A humán szervezet immunfolyamataiban egyik jelentős lépés, hogy a fagociták peroxidok termelésével pusztítják el a behatoló mikroorganizmusokat. Célunk, hogy egy lipid peroxid toleráns mutáns törzs vizsgálatának segítségével tanulmányozzuk, hogyan változik a mutánsban az antioxidáns enzimek aktivitása, az oxigén szabad gyökök koncentrációi és az antioxidáns fehérjék mennyisége. Hosszabb távon célunk meghatározni azt a gént vagy géneket, amelyek felelősek lehetnek egy magasabb peroxid toleranciáért, ezen eredményeket pedig adaptálni az orvostudomány területére. A *Schizosaccharomyces pombe* a biológiai kutatások számos területén kiváló modellszervezet, haploid és diploid állapotban egyaránt fenntartható, generációs ideje rövid, a molekuláris genetika csaknem valamennyi módszere alkalmazható a kutatásában.

A munkánk során 5 különálló tenyészetet kezeltünk lipid peroxid növekvő koncentrációjával, melyből egyenként négy különálló telepet izoláltunk. Az így kapott 20 törzsből választottuk ki a legellenállóbbat, melynek a minimális gátló koncentrációja (MIC) lipid peroxidra: 8mM. Ez a szülői törzs koncentrációjának a négyszerese. Ezt a törzset neveztük el lipid peroxid toleráns mutánsnak. Ezzel szemben a H₂O₂ MIC értéke a mutánsban nyolcada volt a szülői törzsnél mért értékhez képest, ami rendkívül meglepő, mivel hasonló szerkezetű molekuláról van szó. Semlegesítésükben részt vevő enzimek és fehérjék egy része mindkét molekulát tudja bontani, természetesen nem azonos hatékonysággal. Ezért megmértük a glutation oxidációban és redukcióban részt vevő antioxidáns enzimek aktivitását (glutation reduktáz, glutation peroxidáz), a sejt fő NADPH termeléséért felelős glükóz-6-foszfát dehidrogenáz aktivitását, a kataláz enzim aktivitását. Fontos információ a sejt oxido-redukciós állapotáról az intracelluláris peroxid és szuperoxid gyök koncentráció. A sejtmembrán megváltozására utal az antimotikumokkal szembeni eltérő MIC-ja a toleráns mutánsnak, ezért tervezzük a továbbiakban elektron paramágneses rezonancia spektroszkóppal megmérni a membrán fázistranzíciójának változását.

MIKROGEN-1

Az *E. coli* baktérium mutációs spektrumának vizsgálata a *cycA* gén segítségével

Cseh Botond

V. évf. biológus

MTA SZBK Biokémiai Intézet

témavezető: Dr. Pósfai György

Csoportunk azt vizsgálja, hogyan változik a mobilis genetikai elemek aktivitása az *E. coli* sejt adaptációs folyamatai során. Ehhez a mutációs ráta és spektrum pontos megállapítására van szükség. A mutációs események általában ritkák ($<10^{-6}$ /gén/osztódás), ezért a spontán mutációk detektálásához a mutánsokat kiválogató szelekcióra van szükség. A mutációs spektrum meghatározására többféle módszer is rendelkezésre áll. A gyakrabban használt mutánsszelekciós rendszerek azonban specializáltak abból a szempontból, hogy csak bizonyos fajta mutációk kiválogatására alkalmasak. További hátrányt jelent, ha a vizsgált mutációk nem neutrálisak, azaz a mutáns sejtek hátrányt vagy előnyt élvezhetnek a növesztési körülmények között. Ez torzíthatja a kapott mutációs ráta értékét, és nehézséget okoz különböző növekedési sebességű törzsek összehasonlításakor. Célunk egy olyan mutánsszelekciós rendszer létrehozása, amely a sejtek növekedése szempontjából neutrális mutációkat detektál, különféle növekedési sebességű törzsek összehasonlítását is lehetővé teszi, és alkalmas bármilyen típusú mutáció kimutatására. A D-cikloszerin rezisztencia jelenségére - illetve az ennek hátterében álló *cycA* mutációkra - alapozva kialakítottunk egy olyan rendszert, amely mindezeknek a szempontoknak megfelel, és egy általánosítható összképet ad az *E. coli* lejátszódó mutációs eseményekről. A D-cikloszerin antibiotikum letális hatásának alapja az, hogy meggátolja a baktériumokat a peptidoglikán, a sejtfallal egyik alkotóelemének létrehozásában. A D-cikloszerin felvételéért a *cycA* gén által kódolt permeáz felelős. Ha ebben a génben a permeáz inaktíváló mutáció következik be, a sejt rezisztenssé válik az antibiotikummal szemben. A következő kísérleteket végeztük el: (1) Meghatároztuk, milyen minimális antibiotikum koncentráció (MIC) szükséges a gátló hatás kifejtéséhez az *E. coli* MG1655 sejtek esetében. (2) Megállapítottuk, hogy a D-cikloszerin rezisztenciáért minden esetben a *cycA* gén mutációja felelős. A bizonyításhoz a *cycA* gén vad változatát egy indukálható konstrukcióban egy plazmidban klónoztuk, és rezisztens mutánsokba juttattuk. Minden vizsgált esetben azt kaptuk, hogy indukcióra a vad típusú *cycA* gén komplementálta a mutáns gént, és a sejt antibiotikum-érzékenysége helyreállt. (3) *CycA* mutánsokra szelektálva megmértük az MG1655 törzs és módosított változatainak mutációs rátáját. (4) A mutánsok *cycA* génjének PCR amplifikálásával megvizsgáltuk, milyen arányban részesednek a mutációkból a pontmutációk, a deléciók és az IS elemek okozta inszerciók. (5) Az inszerció mutánsokat IS-specifikus PCR segítségével vizsgálva megállapítottuk, mely IS elemek dominánsak az inszerciók létrehozásában. (6) Pontmutánsok szekvenálásával megvizsgáltuk a *cycA* gént inaktíváló mutációk eloszlását.

A részletesen jellemzett és kidolgozott rendszer segítségével a mobilis genetikai elemek evolúciós és adaptációs folyamatokban játszott szerepét részleteiben tanulmányozhatjuk. Jelenlegi kísérleteink arra mutatnak, hogy a sejtek fiziológiai állapotuk függvényében képesek modulálni a mobilis elemek aktivitását. A jelenségnek az elméleti vonatkozásokon túl gyakorlati/biotechnológiai jelentősége is van.

MIKROGEN-2

Járomspórás gombák pigment termelésének módosítása és fokozása

Csernetics Árpád
IV. évf. biológus
SZTE TTK Mikrobiológiai Tanszék
témavezető: Dr. Papp Tamás

Karotinoidokat az élelmiszer-, a kozmetikai- és a gyógyszeripar, valamint az állattenyésztés (takarmány kiegészítőként) használ fel jelentősebb mennyiségben. Ismert antioxidánsok, újabban daganatos megbetegedésekkel szembeni megelőző és az immunrendszer erősítő hatásukat is kimutatták.

A járomspórás gombák, különösen a *Phycomyces*, a *Blakeslea* és a *Mucor* nemzetségek tagjai, régóta használt modell organizmusai a karotin bioszintézis biokémiai és genetikai tanulmányozásának. Munkánk célja, hogy rekombináns technikákat alkalmazva a *Mucor circinelloides* gomba karotin bioszintézisét úgy módosítsuk, hogy egyrészt növeljük a gomba β -karotin termelését, másrészt lehetővé tegyük értékes oxigéntartalmú β -karotin származékok termelődését.

A járomspórás gombák karotinoid szintézisének végső terméke a β -karotin. Ezért az asztaxantin termelő *Agrobacterium aurantiacum* β -karotin – asztaxantin konverziót biztosító génjeire alapozott expressziós vektorokat konstruáltunk és ezekkel *M. circinelloides* törzseket transzformáltunk, végül elemeztük a transzformánsok karotintermelő képességét TLC és HPLC módszerekkel. A transzformánsokban kimutathatóvá vált az asztaxantin, továbbá megjelentek a β -karotin-asztaxantin átalakulás köztes termékei is.

Vizsgálataink másik területe a karotin túltermelő törzsek előállítására. Ennek érdekében a nem-karotin specifikus izoprén bioszintézis út genetikai módosítását célzó kísérleteket kezdtünk meg. Ez bizonyos gének túlműködtetését jelenti a géndózis hatás alapján. Az izoprén út egyes sebesség-meghatározó lépéseit felelős génjeit (pl. *isoA*: farnezil pirofoszfát szintáz; *carG*: geranilgeranil pirofoszfát szintáz) tartalmazó vektorokat készítettünk és ezek felhasználásával megkezdtük a transzformációs kísérleteket *M. circinelloides*-ben.

Terveink közt szerepel más karotintermelő járomspórás gombák (pl. *Blakeslea trispora*, *Gilbertella persicaria* és *Phycomyces blakesleeanus*) módosítása és analízise is. Ennek érdekében megkezdtük egy az *Aspergillus nidulans* acetamidáz (*amd*) génjére alapozott, direkt szelekciót biztosító transzformációs rendszer kidolgozását is.

MIKROGEN-3

DNS-rekombinációs folyamatok irányítása az *Escherichia coli* baktérium genomjában

Csörgő Bálint
IV. évf. biológus
SZTE TTK Genetikai és Molekuláris Biológiai Tanszék
témavezető: Dr. Pósfai György

A genommanipulációs kutatások alapvető modellszervezete az *Escherichia coli* baktérium. Ma már számos eszköz és módszer létezik az *E. coli* genomjának irányított megváltoztatására. Csoportunk az *E. coli* genom nagyléptékű, tervszerű módosításán dolgozik. A munka gyorsítása érdekében szükség van a genommanipulációs módszerek tökéletesítésére, ezért elengedhetetlen maguknak a módszereknek a tanulmányozása.

A bakteriális genommanipuláció módszerei változatosak, ugyanakkor néhány alapvető közös vonás megtalálható bennük: egy mesterséges DNS-darab (amely lehet plazmid vagy lineáris DNS fragmentum) *in vitro* szintézise, a DNS-darab bejuttatása a genom kiválasztott lokuszába a DNS-konstrukció és a genom homológ rekombinációja révén, majd a beépített szakasszal részben átfedő genomdarab kivágása szintén a rekombináció felhasználásával.

A dolgozat munkája arra irányul, hogy a laborban korábban kifejlesztett egyik ilyen genommodosító technikát hatékonyabbá tegyük és emellett adatokat nyerjünk a sejt DNS-rekombinációs mechanizmusainak működéséről is. A vizsgált technika egyik vonása, hogy a második rekombinációs lépés - a kívánt genomdarab kivágása - hatékonyságát nagyban megnöveljük egy ún. dupla szálú genomtöréssel (DSB). A DSB a szintetizált DNS-darab egy specifikus régiójában, a rendszerhez adott segédplazmidon kódolt speciális enzim segítségével történik. Ennek a kettős szálú genomtörésnek a vizsgálata is nagy szerepet kap a dolgozatban. Konkrétan tehát arra keresünk választ, dupla szálú genomtörés által stimulált genommodosító módszer hatékonysága mennyiben függ a különböző paramétereiktől. Nevezetesen: milyen mértékben irányítható a genomba történő beépülés a rekombinálódásért felelős homológ DNS-szakaszok relatív hosszának változtatásával? Mennyire tudjuk irányítani a beépített DNS-szakaszok alternatív kivágódási módjait a DSB pozicionálásával?

A kísérletekből megállapítottuk, hogy a homológ DNS-szakasz relatív hossza valóban nagymértékben befolyásolja magának a plazmidnak a rekombinálódását a sejt genommal; kimondható, hogy a hosszabb homológ szakasz mentén gyakoribb a rekombinálódás. Egyértelművé vált a DSB pozíciójának hatása a kivágódásra is: azon homológ szakasz mentén gyakoribb a kivágódás, mely a kettős szálú törés pozíciójához fizikailag közelebb van. Az eredmények ismeretében a módszer egésze hatékonyabbá tehető.

MIKROGEN-4

NiFe hidrogenázok aktív centrumának összeszerelődésében szerepet játszó fehérjék vizsgálata *Thiocapsa roseopersicina* baktériumban

Dávid Réka

V. évf. biológus

SZTE TTK Biotechnológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Kovács Kornél, Dr. Rákhely Gábor

A *Thiocapsa roseopersicina* egy fototróf bíbor kénbaktérium, amely két membránkötött és egy szolubilis hidrogenáz enzimet tartalmaz. A hidrogenázok bonyolult érési folyamaton mennek át, mire betölthetik feladatukat a sejtben. A bioszintézisükben számos kisegítő fehérje vesz részt, melyek közül néhány pleiotróp hatású, azaz minden enzim éréséhez elengedhetetlen, a másik csoport tagjai pedig specifikusak, és csak egy izoenzim összeszerelődésében vesznek részt. A hidrogenázok biotechnológiai alkalmazásához feltétlenül ismernünk kell a bioszintézisük lépéseit és a kisegítő fehérjék pontos funkcióját. Transzpozonos mutagenézissel sikerült számos kisegítő gént megtalálni. Ennek eredményeként megállapítható, hogy eltérően a legtöbb hidrogenáz tartalmazó organizmustól, melyekben a kisegítő gének a struktúrgénekekkel közös operonba rendeződnek, a *T. roseopersicina*-ban ezen gének a genomban szétszórtnak helyezkednek el. A jelenlegi legrészletesebb modell az *E. coli* 3-as hidrogenázának érésére lett felállítva. A *T. roseopersicina* [NiFe] hidrogenázainak érését vizsgálva ettől eltérések figyelhetők meg.

Célom ezen különbségek molekuláris hátterének tisztázása volt. Deléciós mutagenézissel és fehérje-fehérje kölcsönhatáson alapuló eljárásokkal a kisegítő fehérjék közül a HypC típusú fehérjék és az endoproteázok specifitását megvizsgálva felállítottunk egy olyan módosított modellt, amellyel a különböző baktériumokban kapott eredmények értelmezhetőek.

MIKROGEN-5

[Ni-Fe] hidrogenáz enzimek struktúra-funkció analízise irányított mutagenézissel

Dorogházi Emma

IV. évf. biológus

SZTE TTK Biotechnológiai Tanszék, MTA SZBK Biofizikai Intézet

témavezető: Dr. Kovács Kornél, Dr. Rákhely Gábor

Hidrogenáz enzimek sokféle organizmusban előfordulnak, baktériumokban, archaeobaktériumokban, sőt néhány magasabbrendű algában is. A hidrogéntermeléssel a sejt a felhalmozódó elektronok sejten kívülre jutását teszi lehetővé, míg a hidrogén felvétele energiatermelési, illetve megőrzési lehetőség a sejt számára. A hidrogenázok többféle szempont szerint csoportosíthatóak, az aktív centrum fémtartalmát alapul véve a *Thiocapsa roseopersicina* mindhárom eddig azonosított hidrogenáza [Ni-Fe] típusú. A HynSL és a HupSL enzimek membránkötöttek, míg a HoxYH a sejt citoplazmájában lokalizálódik. A hidrogenáz enzimek különleges, heterobinukleáris aktív centruma a nagy alegységben található, egy Ni és egy Fe atom kapcsolódik egymáshoz nagyon konzervált ciszteinek S atomjain keresztül. A Fe atomhoz három kétatomos ligand kötődik, két cianid és egy szénmonoxid. A fématomok koordinációjában szerepet játszó ciszteinek nagyon konzerváltak, a CXXC motívumok minden ismert [Ni-Fe] hidrogenázra érvényesek.

Megfigyeltünk egy nagyon konzervált hisztidin gazdag régiót a hidrogenázok nagy alegységében, melyről semmilyen irodalmi adat nem áll rendelkezésre. A HxHxxHxxHxH szekvencia jelen van minden membránkötött hidrogenáz nagy alegységében, illetve a szolubilis hidrogenázokban az öt hisztidin közül kettő helye konzervált. A motívum szerepét irányított mutagenézissel kezdtük vizsgálni, és jellemezzük a létrehozott mutáns enzimek biokémiai sajátosságait.

MIKROGEN 6

Fungicid-polirezisztens *Trichoderma* törzsek előállítása és jellemzése

Hatvani Lóránt
2004. biológus
SZTE TTK Mikrobiológiai Tanszék
témavezető: Dr. Manczinger László

Több növénypatogén gombafaj ismeretes (pl. *Fusarium culmorum*, *Microdochium nivale*, *Pythium debaryanum*), melyek már 10 °C alatti hőmérsékleten is nagy károkat okoznak a búza- és kukoricaültvényeken. Velük szemben sikerrel alkalmaznak többféle kémiai növényvédőszer is, azonban ezek lebomlása lassú, így hosszú ideig a talajban maradványokká válnak, károsítják az adott terület élővilágát.

Régóta tudjuk, hogy több *Trichoderma* törzs is képes az említett növénypatogén gombák hatékony elpusztítására. Ennek oka gyors növekedésük, rhizoszféa-kompetenciájuk, extracelluláris enzimek, pl. proteázok, kitinázok, cellulázok termelése, széleskörű szén- és nitrogénforrás-hasznosítási képességük, antibiotikum-termelésük. Emiatt a *Trichoderma* törzsek, mint biofungicidek és különféle kémiai fungicidek kombinált alkalmazásával ugyanolyan szintű növényvédelmet érhetnénk el, mint jelenleg csupán a vegyszerekkel, de így jelentősen csökkenthető lenne a környezet kémiai terhelése. Emellett bizonyított, hogy a *Trichoderma* törzsek jelentős mértékben segítik a gabonamagvak csírázását és a növények fejlődését azáltal, hogy a talajból felszabadítanak, és így a növények számára felvehetővé tesznek bizonyos ásványi anyagokat és nyomelemeket.

A probléma az, hogy a mezőgazdaságban alkalmazott peszticidek a *Trichoderma* törzsekre is jelentős gátló hatást fejtenek ki. Ezért munkám célja az volt, hogy a természetből izolált, hidegtűrő, vad *Trichoderma* törzsekből mutagenézissel és protoplasztfúzióval peszticid-polirezisztens, biofungicidként alkalmazható törzseket hozzak létre.

A megfelelő szülői törzsek kiválasztása után először megvizsgáltam azoknak a mezőgazdasági növényvédelemben leggyakrabban alkalmazott peszticidekkel szembeni érzékenységét, majd UV fény, mint mutagén ágens felhasználásával a legerősebb gátlóhatást kifejtő peszticidekkel szemben rezisztens mutánsokat hoztam létre belőlük. *In vitro* ellenőriztem a kapott monorezisztens mutáns törzseknek az említett növénypatogén gombákkal szembeni antagonistikus képességét először peszticidek nélkül, majd a megfelelő vegyületek jelenlétében. Ezután a rezisztenciamárkereket protoplasztfúzióval peszticid-polirezisztens heterokarionokban, majd a paraszexuális ciklus során bekövetkező mitotikus *crossing-over*t kihasználva haploid rekombináns törzsekben egyesítettem. Megtörtént különböző szénforrásokon a spóratermelés optimalizációja, valamint csávázási kísérleteket is végeztem annak tisztázására, milyen hatással vannak törzseink a gabonamagvak csírázására és a csíranövények kezdeti fejlődésére. Sikeres üvegházi kísérletek is folytak, és lezajlott a törzsek molekuláris genetikai vizsgálata (RAPD) annak érdekében, hogy a későbbiekben a természetből visszaizolálva törzseink egyértelműen azonosíthatóak legyenek a genetikai és rezisztenciamárkereik alapján.

MIKROGEN 7

A *Candida albicans* PPZ1 gén jellemzése

Kovács László, Molnár Gábor
V.évf. biológus, V.évf. biotechnológus
DE TTK, DE OEC Orvosi Vegytani Intézet
témavezető: Dr. Dombrádi Viktor

A rendelkezésünkre álló irodalmi adatok és szekvencia adatbázisok szerint a protein foszfatáz Z (PPZ) új típusú foszfatázt kódoló gének csak gombákban fordulnak elő. A PPZ enzimek a sejtfalszintézis, az ozmotikus stabilitás és a gombanövekedés szempontjából alapvetően fontos feladatot látnak el. Kísérleteinkben megvizsgáltuk egy patogén gombában, a *C. albicans*-ban található PPZ gének számát és nukleinsav sorrendjét.

S. cerevisiae PPZ1 specifikus DNS próbák felhasználásával Southern blot kísérletekben igazoltuk, hogy *Candida albicans*-ban egyetlen protein foszfatáz Z-t kódoló gén található, amelyet *CaPPZ1*-nek neveztünk el. Ezután elvégeztük a gén klónozását. Első lépésként specifikus oligonukleotid primerek segítségével a *C. albicans* ATCC 10231 tesztörzséből izolált genomi DNS-ből polimeráz láncreakcióban amplifikáltuk a PPZ1 gént tartalmazó kb. 2700 bázispár hosszúságú szakaszt. A PCR terméket pGEM-T Easy vektorba ligáltuk, majd DH5α *E. coli* sejtekbe transzformáltuk. A sejtekből izolált plazmidot *Sal* I és *Eco*R I restriktív enzimekkel végzett térképezéssel ellenőriztük. Így módon hat, a várt méretű beépült DNS-t tartalmazó genomi klónt nyertünk. A teljes inzertált DNS mindkét szálát szekvenáltuk oligonukleotid primerek felhasználásával. A génszekvenciák analízise során a *C. albicans* PPZ1 nukleinsav sorrendjének előre nem várt nagymértékű polimorfizmusát figyeltük meg. Egyetlen sejtől tenyésztett *C. albicans* klónból izolált DNS polimorf régiójának szekvenálás alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy a PPZ1 gén két alléja a vegetatív úton szaporodó diploid gombában egymástól független úton fejlődött, ami két különálló szekvenciacsoport kialakulásához vezetett. Ezen kívül számos egyedi polimorfizmus biztosítja a gomba génkészletének változatosságát.

Kísérleteink felhívták a figyelmet a *C. albicans* különleges szaporodási módjából adódó genetikai polimorfizmusára, és adataink felhasználhatóak a PPZ1 gén konzervált régiói alapján megtervezhető antiszensz oligonukleotidok előállítására.

MIKROGEN-8

Hidrogén metabolizmusban résztvevő gének vizsgálata transzpozonos mutagenézissel *Methylococcus capsulatus* (Bath)-ban

Sáfár Zsolt
V. évf. biológus
SZTE TTK Biotechnológiai Tanszék
témavezető: Dr. Kovács L. Kornél

A *Methylococcus capsulatus* (Bath) egy olyan metanotróf baktérium, amely képes a metánt, mint egyedüli szén- és energiaforrást hasznosítani aerob körülmények között. A metán lebontó anyagcsere-útvonalai, az ezekhez kapcsolódó enzimek, az azokat kódoló gének és funkcióik intenzív vizsgálatok alatt állnak. Fontos ezeket megismernünk, hogy megérthessük a metabolikus folyamatok közötti kapcsolatokat. Számunkra a legizgalmasabb feladat az oxigenázok és a hidrogenázok, valamint a közöttük lévő anyagcsere kapcsolatok vizsgálata. Igazolt tény, hogy léteznek a *Methylococcus capsulatus* (Bath)-ban membránkötött és szolubilis hidrogenázok. A monooxigenázok $\text{NADH} + \text{H}^+$ igénye fedezhető H_2 gáz adagolásával. Korábban előállítottunk mindkét típusú hidrogenáz struktúrgénjeiben mutáns törzseket irányított mutagenézissel (ΔhupSL és ΔhoxH). A mutánsok vizsgálata olyan nem várt eredményre vezetett, hogy a NAD^+ -ot közvetlenül redukálni nem képes, membránkötött Hup hidrogenáz játszik szerepet a hidrogén hajtott MMO aktivitás növekedésében, míg a NAD^+ redukáló szolubilis Hox hidrogenáznak nincs ebben a folyamatban szerepe. Ahhoz, hogy a Hup hidrogenáz hidrogén metabolizmusban betöltött szerepét jobban megismerhessük, fontos tudnunk a Hup hidrogenáz kifejeződésének és összeszerelődésének részleteit. Ennek első lépése az összes struktúr- és kisegítőgén megtalálása. Munkám során célul tűztem ki, hogy a *Methylococcus capsulatus* (Bath) összes olyan génjét megtalálom transzpozonos mutagenézissel, amelyek a Hup hidrogenáz kifejeződésében, vagy érésében játszanak szerepet. Az időközben publikált *Methylococcus capsulatus* (Bath) teljes genom szekvenciájának ismerete lehetővé tette számomra a mutagenizált gének azonosítását és tágabb környezetének vizsgálatát, megnyitva ezzel az utat a gének pontos megismeréséhez.

MIKROGEN-9

A *Bacillus licheniformis* BLF fág immunitási régiójának molekuláris analízise

Spisák Sándor
2004. agrármérnök
SZIE MKK Biotechnológia és Nemesítés Tanszék
témavezető: Dr. Holczinger András,

A *Bacillus licheniformis* nemesített törzseivel az iparban proteázokat, α -amilázt, és többféle antibiotikumot termelnek. A *B. licheniformis* 19-es bacitaracin termelő 3x-os lizogén törzse a BLF, az LP52 temperált fágokat, és a DLP10716 defektív fágot hordozza. A BLF fág a baktérium szaporodása során a másik két profág éltciklusát szabályozza. Ezekkel a fágokkal háromszorosan lizogenizált más *B. licheniformis* törzsek a 19-es törzshöz hasonlóan stabilabbak mint a 2x-es, csak LP52, és DLP10716 profágokat hordozó természetes vagy BLF kúrált lizogének. A mérsékelt fágok indukciója a baktérium pusztulását okozza. Ezért fontos a *B. licheniformis* törzsek lizogén-stabilitásának, a BLF fág éltciklusának vizsgálata.

Terveink között szerepelt a BLF fág represszor génjének klónozása, majd egy hőérzékeny represszor mutáns izolálása, ezek segítségével a többi, a fág DNS-e által kódolt gén, mint pl.: az integráz

2004gén izolálása és klónozása, majd egy szabályozható integrációs vektort konstruálása.

Munkánk során a BLF fág genomjából klóntárat készítettünk, amelynek egyes tagjaival a BLF fagra érzékeny *B. licheniformis* 113-as törzset transzformáltuk. Clear-plakk mutánsokat komplementáló klónokat kerestünk. Egy 3,5 kb méretű klón állította helyre a turbid fenotípust. A klónt tartalmazó gazdán titráltuk a vad típusú BLF és az LP52 fágokat. A titrálás hatékonysága 6 valamint 4 nagyságrenddel csökkent. Ezt követően Southern-hibridizációval igazoltuk, hogy a represszióért felelős DNS darab valóban a BLF fágból származik. Ezt klónoztunk, majd két vég felől szekvenáltunk. A nagyobb bizonyosság kedvéért megpróbáltuk a represszor gén valamelyik belső fragmentje segítségével, Campbell rekombinációval elrontani az általunk előállított 1x-es stabil lizogén *B. licheniformis* 11-es törzsből a BLF profágjának represszor génjét. Bioinformatikai vizsgálatunk során DNS homológiát nem találtunk, ezért „kifelé” író primerekkel tovább szekvenáltunk, arra gyanakodva, hogy csak a represszor egy részét klónoztuk. A klónunkról történő génexpressziót Northern hibridizálással majd RT-PCR igazoltuk. Jelenleg primerextenziók segítségével folytatjuk vizsgálatainkat.

MÓDSZ-1

BotLine - Internetes adatbázis botanikus kerteknek

Darabos Péter

III. évf. matematika-számítástechnika

PTE TTK Informatika és Általános Technika Tanszék

témavezető: Pere László

A botanikuskertek gyűjteményeik gazdagítására egymás között növények szaporítóanyagait cserélik. A magcserékben résztvevő kertek évente egy maglistát (*Index Seminum*) hoz nyilvánosságra, amely az általa cserére felajánlott fajok nevét tartalmazza. A botanikus kertek nem csupán mint növénygyűjtemények jelentősek, hanem génbankként is figyelemreméltóak. Ahhoz hogy egy botanikus kert gazdagítani tudja gyűjteményét folyamatosan új kapcsolatokat kell építenie.

A kapcsolat kiépítése nehézkes folyamat. Az első nehézséget az *Index Seminum* minél több botanikuskerthez történő eljuttatása képi. Ugyanígy problémát jelent a beérkező, esetenként több száz maglista feldolgozása is, ami igen hosszadalmas és időtrábló folyamat.

Ezen problémák megoldását nagyban segítené egy Internetes adatbázis, mely nyilvántartja a kerteket, valamint azok maglistáit. Ennek segítségével leegyszerűsödhet a kertek számára a kapcsolatok építése. Ezen felül az adatbázisba a világ bármely botanikus kertje feliratkozhat, így könnyebbé válik az *Index Seminum* közzététele, valamint a magok keresése és megrendelése.

TDK munkám során a Pécsi Tudományegyetem Természettudományi Karának Növényzeti Tanszékén készítettem egy ilyen adatbázist, mely jelenleg tesztelés alatt áll, de rövid időn belül megkezdheti működését. A rendszer elindítása megoldást nyújtana a fent megfogalmazott problémákra mindegyikére.

A kutatás jelentősége, hogy nemzetközi szinten teremti meg a botanikus kertek számára a kapcsolatfelvétel és a magcsere lehetőségét.

MÓDSZ-2

Adatbázison alapuló elektronikus gombahatározó

Kutszegi Gergely, Pogány Luca

III. évf. biológus

ELTE TTK Növényiszervezettani Tanszék

témavezetők: Dr. Jakucs Erzsébet, Dr. Kriszta György

Magyarország nagygomba-fajairól (Basidiomycetes, Ascomycetes) az utóbbi években nem készült olyan képekkel illusztrált, átfogó, könyv, illetve számítógépes adatbázis, amely kellően részletes és szakmailag igényes. A felsőoktatásban és a gomba-ismeretterjesztő tanfolyamokon erre nagy szükség lenne.

Munkánk célja hazánk leggyakoribb aszkuszos és bazídiumos nagygomba-fajainak (Ascomycetes és Basidiomycetes), illetve azok tulajdonságainak (határozóbélyegeinek) összegyűjtése egy olyan számítógépes adatbázisba, amely a kutatók és oktatók, valamint a gombákat kevésbé ismerők számára is átlátható és könnyen kezelhető. Mivel ma már gyorsabb számítógépek és nagyobb teljesítményű adathordozók állnak rendelkezésre, szükségesnek látszik a régi, jórészt anyagi okokból terjedelmi problémákkal bajlódó adatbázisokat digitalizálni, valamint a modern, számítógépek nyújtotta új lehetőségeket is kihasználva egy interaktív adatbázist létrehozni.

Eddig kiépítettük a lexikonként, valamint határozókulcsként működő egységet. A termőtestekről a habitusképeket, a mikroszkópos fotókat és rajzokat tartalmazó modul feltöltését folyamatosan végezzük, a nemzetségekről a leírást, az általános szervezettani ismertetőt, a taxonómiáról szóló fejezetet, és a két választható taxon különbségeinek kiemelését végző egységet folyamatosan fejlesztjük. A program adatmátrixra épül, melynek soraiba az egyes taxonok neveit, oszlopaiba a termőtestek általunk összegyűjtött rendszertani jelentőséggel bíró bélyegeit, illetve bélyegcsoportjait helyeztük. A mátrix adódó celláit egyesekkel és nullákkal töltöttük ki, így jelöltük a különböző bélyegek jelenlétét, illetve hiányát.

Gyűjtéseket a Dunántúlon végeztünk. A gombákról természetes környezetükben habitusképeket, a laboratóriumban a termőtestek állagától függően kézi, illetve fagyasztó mikrotomos metszeteket, majd a rendszertani bélyegnek számító részéről (bazídiumok, aszkuszosok, cisztídiumok, spórák) mikroszkópos fotókat, és rajztükör segítségével mikroszkópi rajzokat készítetünk. Felvételeinkhez Differenciál-interferencia-kontraszt (DIC) fénymikroszkópot használtunk. A programot Macromedia Flash MX 6.0-ban írtuk meg, melyben az általunk szerkesztett vektorgrafikus objektumok és a fényképek animációit, valamint az adatmátrix működését az ActionScript programnyelv segítségével irányítjuk.

MÓDSZ-3**Anatómiai preparátumok digitálizálása Quicktime-vr technikával**

Lénárd Lambert

2004. állatorvos

SZIE ÁOTK Anatómiai és Szövetani Tanszék

témavezetők: Dr. Sótónyi Péter, Dr. Szalay Ferenc, Petneházy Örs

Szakdolgozatom témája a Szent István Egyetem Állatorvos Tudományi Karának anatómia múzeumában található preparátumok három dimenziós archiválása QTVR technológia segítségével.

A feladat legkritikusabb része a fotózáshoz szükséges speciális állvány és háttér megtervezése és kivitelezése volt, ugyanakkor a munka javarészt a tárgyak fotózása, az elkészült fotósorozatok retusálása, a QTVR tárgyak összeállítása és a kész állományok interaktív HTML felületen történő összeállítása tette ki.

A munka eredménye egy 4,7 Gb-os DVD, az anatómiai múzeumban található csontvázak és koponyák, néhány végtag preparátum, lószobor és pár egyéb készítmény szabadon forgatható három dimenziós QTVR változatával.

Mivel ilyen jellegű munka eddig még nem folyt az Egyetemünkön, a szakdolgozat fontos részét képezik a technikai útmutatások, személyes tapasztalatok és ötletek a továbbfejlesztéshez, amelyek segíthetik azokat, akik a jövőben ezt a feladatot folytatják. Munkám során igyekeztem nagy felbontású és kis léptetésszögű állományokat is készíteni, amelyek visszajátszása ma talán még technikai problémákba ütközhet, de remélem a közeljövő számítástechnikai fejlődésének köszönhetően már nem fog gondot okozni.

MÓDSZ-4**A környezeti nevelés megvalósítása erdei iskola keretében**

Leskó Gabriella

V. évf. környezettudomány

DE TTK Alkalmazott Ökológia Tanszék, NYF TTFK Állattan Tanszék

témavezetők: Dr. Lakatos Gyula, Dr. Legány András

Az erdei iskola sajátos tanulásszervezési módja a környezeti nevelésnek. Én azért választottam ezt az oktatási formát, mert az együtt töltött öt nap alatt tantárgyi és időkorlátok nélkül, a holisztikus szemléletet előtérbe helyezve taníthatjuk a gyerekeket egy környezettudatos életformára.

Az általam szervezett erdei iskola színhelye Márokpapin volt az E-misszió Természet- és Környezetvédelmi Egyesület táborhelyén, ami a Szatmár-Beregi Tájvédelmi Körzet szívében helyezkedik el. Az erdei iskola célkitűzése a beregi táj élővilágának, földrajzának, kultúrájának megismerése és a köztük lévő kapcsolatok feltárása.

Az erdei iskola megszervezésén és lebonyolításán túl egy kérdőíves felmérés formájában próbáltam választ keresni arra, hogy ez az öt nap mennyire volt hatással a gyerekek környezeti attitűdjeinek változására.

MÓDSZ-5**Az *Opuntioideae* taxon nyilvántartó és határozó rendszere**

Vasvári Erzsébet
 III. évf. biológus
 PTE TTK Növénytani Tanszék
 témavezető: Oroszné Dr. Kovács Zsuzsanna

A dolgozat célkitűzése a kaktuszok családjába (azon belül az *Opuntioideae* alcsoportba) tartozó *Opuntia* és *Cylindropuntia* speciesek virág- és megporzás-biológiájának vizsgálata.

Hazánkban és egész Európában a kaktuszok kedvelt dísznövények. A meleg égövben, a száraz területeken építőanyagként, kerítésként, tüzelőanyagként és táplálékadó növényként is használja az emberiség (Danert, 1974). Egyes fajai a mi éghajlati körülményeink között is télállóak. Ezek között vannak ehető termésű fajok, valamint olyan dekoratív növények, amelyek a dísznövénytermesztés számára perspektivikusak lehetnek.

A fajazonosság kérdése minden vizsgálatra kerülő taxon esetében rendkívül fontos. Az egyes fajok beazonosítása sokszor nehéz, az idegen nyelvű határozók és a megfelelő illusztrációk hiányában. Ebben a munkában bemutatunk egy általunk készített határozó programot, mely alapján az *Opuntia* és *Cylindropuntia* taxonok magyar nyelven, könnyen és gyorsan beazonosíthatók. Ez a program nem csak saját kutatásainkat segítené, hanem a kertészek, és a kaktuszkedvelők számára is megkönnyíthetné a beazonosítást.

A szakirodalom által feldolgozott fajleírásokat a virágmorfológiai és anatómiai, valamint bizonyos fiziológiai vizsgálati eredményeinkkel szeretnénk kiegészíteni. A munka első lépéseként elkészült a számítógépes határozó programunk, amelyben eddig 130 faj határozó kulcsait helyeztük el, és amellyel a taxonok jelentős része már beazonosítható.

A későbbiekben a saját szaporodásbiológiai vizsgálataink eredményeiből kiemelnénk azokat a jellemző tulajdonságokat, amelyek határozókulcsként felhasználhatóak. Ezeket a vizsgálatokat 2004-ben kezdtük meg. A következő években a megismételt vizsgálatok eredményeit közölni fogjuk.

MOLBIOL1-1**Transz-2-hexanal vizsgálata in vivo állatkísérletekben**

Amrein Krisztina
 III. évf. biológus
 PTE TTK, PTE ÁOK Orvosi Népegészségtani Intézet
 témavezető: Dr. Ember István

Transz-hexanal tiszta állapotban szintelen, viszkózus folyadék, kémiaiag α, β telítettlen karbonil vegyület. Levélaldehydnek is szokták nevezni, mivel zöld levelekben, gyümölcsökben található, a frissen vágott fű illatát ezen vegyület adja.

A növények mikroorganizmusokkal szembeni védekező mechanizmusának fontos összetevője, nagy mennyiségben keletkezik a sérülés felületén, baktericid hatásával védi a növényeket.

Irodalmi adatok szerint, hasonlóan a szerkezetileg analóg krotonaldehydhez Ames tesztben és SCE-ben genotoxikusnak bizonyult. DNS-addukt képző tulajdonságáról is készültek tanulmányok, így feltételezhető, hogy a humán karcinogenezisben is szerepet játszhat.

Célkitűzések: A transz-2 hexenál génexpresszió növelő hatásának vizsgálata, karcinogenezisben játszott szerepének, hatásmechanizmusának meghatározása állatkísérletes módszerrel.

Anyag és módszer: Kísérleteink során az Orvosi Népegészségtani Intézet által kifejlesztett 'short term' tesztrendszerrel használtuk.

50 mg/ttkg hexenallal oltottunk kísérleti csoportonként 6-6 db 6 hetes nőstény beltenyésztett egereket (AKR/J, CBA/Ca, C57BL6 és CH3-He-mg), majd 24, 48 ill 72 órával az expozíció után leöltük őket. Boncolás után egyes szerveikből – máj, vese, lép, tüdő, timusz, nyirokcsomó, csontvelő – mRNS-t izoláltunk, majd hibridizációs technikával meghatároztuk Ha-ras onkogén, és p53 tumor szupresszor gén expresszióját.

Eredmények, következtetések:

'Short term' tesztrendszerben meghatározott génexpressziók nem mutattak számottevő emelkedést a negatív kontrolként használt kukoricaolajhoz képest, míg más, bizonyítottan karcinogén vegyületek (1-nitropirén, DMBA) hasonló kísérleti körülmények között erős overexpressziót váltottak ki. 'Long term' kísérletekben tumorképző hatását bizonyították, ezért feltételezhető, hogy a fent említett vegyületektől eltérő mechanizmussal, epigenetikus hatással rendelkezik.

Rövidtávú kísérleteink eredményei és az irodalmi adatok között ellentmondás van, ezért további kísérleteket tervezünk.

Kettős transzgén egerek előállítására a decorin és a TGF- β 1 kapcsolatának vizsgálatára

Baghy Kornélia

V. évf. biológus

ELTE TTK, SE I. sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet

témavezető: Dr. Kovalszky Ilona

A kötőszövet felszaporodás számos krónikus betegség jellegzetes vonása. A kialakuló fibrózis a szövetek pusztulását idézi elő. A fibrogenézis gátlása ezekben az esetekben a betegség kezelésének meghatározó tényezője lehetne. Ismereteink szerint a kötőszövet felhalmozódás fő stimulátora a TGF- β 1, ezért számos kutatás célja e molekula semlegesítése. A decorin egy kis ECM proteoglikán, mely két ponton is szabályozza a kötőszövet proliferációját. A kollagénekhez kapcsolódva gátolja a kötőszöveti rostok érését, valamint in vitro köti és hatástalanítja a TGF- β 1-et.

Vesefibrózisban a decorin védő hatását bizonyítani tudták. Korábbi vizsgálataink alapján azonban úgy tűnik, hogy májcirrhosis esetén a decorin nem rendelkezik ezzel a tulajdonsággal. A kérdés eldöntésére állatmodellt hoztunk létre. A decorin KO egereket májban TGF- β 1-et expresszáló vonallal kereszteztük. Az állatok géntípusát a farokból izolált DNS PCR vizsgálatával határoztuk meg. A kettős transzgén egerek homozigóta decorin KO és hemizigóta TGF- β 1 genotípusú egyedek. Az eredeti törzsek közül a decorin KO egerek mája épnek bizonyult, míg a TGF- β 1-es állatokban korán spontán fibrózis alakul ki. A decorin KO és a kettős transzgén egerek fő jellegzetessége a szőr korai elvesztése. Ennek megfelelően szövettani metszeteken a szőrtüszők csökevényesek, a bőr hámrétege helyenként csak egy sejtsorból áll. Az állatok mája nem tér el a vad típusú egerektől, de feltételezhető, hogy krónikus károsításra kóros válaszreakciót fogunk kapni. Ezért a decorin KO és a kettős transzgén törzseken májcirrhosist és májrákot idézünk elő thioacetamid illetve dietil-nitrozamin adagolásával. Jelenleg az állatok fenotípusának vizsgálata zajlik immunreakción alapuló módszerek alkalmazásával. A kollagénrostok állapotának jellemzésére minden szervből fény-, és elektronmikroszkópos feldolgozást végzünk.

Kísérleteink jelenleg is tartanak, eredményeink remélhetően enyhítik az irodalom ellentmondásait e két molekula kapcsolatáról.

Glükokortikoid-receptor (GR) vizsgálata humán fej-nyaki tumorokban

Barbai Tamás

III. évf. biológus

ELTE TTK, Országos Onkológiai Intézet

témavezető: Dr. Rásó Erzsébet

A fej-nyak nyálkahártyáiról kiinduló laphám eredetű daganatok okozta halálozás mértéke az utóbbi 20 évben világszerte, így hazánkban is a 40-59 év közötti népességben mindkét nemnél 3-8-szorosára emelkedett. E daganatok prognózi-sának és potenciális-terápiás érzékenységének meghatározása szempontjából lényeges információkkal szolgálhat szteroidreceptor-státusuk meghatározása, új lehetőséget kínálva a daganatellenes küzdelemben. Szövetbankunkból származó fej-nyaki tumor mintákon már megtörtént az androgén- (AR), az ösztrogén- (ER) és a progeszteron- (PR) receptorstátus meghatározása. Mivel többrétegű laphámokban a GR konstitutívan kifejeződik, felmerült a kérdés, hogy az ebből kiinduló fej-nyaki daganatok megtartják-e az expressziót. A glükokortikoid-receptor citoplazmatikus fehérje, de a ligand-kötött forma a magba kerülve transzkripció faktoraként funkcionál. Minden jel szerint a humán tumorok dexametazon-indukált apoptózisát (amely komplex antitumorális kemoterápiás próbálkozások fontos eleme) a GR az SGK-1 (GR-inducible protein kinase-1) és az MKP-1 (mitogen activated protein kinase phosphatase-1) protein szintjének direkt szabályozása révén képes befolyásolni, de számos más, növekedéssel, differenciációval és a sejtciklust szabályozó génnel való kapcsolatát is kimutatták. Vizsgálataink során

48 fej-nyaki tumor GR-expresszióját határoztuk meg oly módon, hogy a fagyasztva porított mintákból totál RNS-t izoláltunk, majd reverz transzkripciót követően 2 μ g cDNS-ből kiindulva nested PCR segítségével igazoltuk adott mintában a GR mRNS jelenlétét. A transzláció bizonyítására immunhisztokémiai reakciót végeztünk. Vizsgálataink során a fej-nyaki daganatok 68%-ában igazoltuk a GR mRNS jelenlétét. Az eddig elvégzett immunhisztokémiai vizsgálatok alapján a GR mRNS pozitív daganatokban a fehérje minden esetben kimutatható a daganatsejt magjában. Végleges kiértékelés egyéb szteroidreceptorokkal való összevetés, a túlélés és a kemoterápiás érzékenység komplex kiértékelése után válik lehetővé.

MOLBIOL1-4

Az LG1208 retinoid-x receptor antagonista karakterizálása

Brázda Péter

V. évf. biológus

DE TTK, OEC Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet

témavezető: Dr. Nagy László

Célunk egy új, potenciális retinoid-x receptor (RXR) ligand, az LG1208 működésének molekuláris szintű karakterizálása volt. Az RXR a magreceptorok fehérjecsaldájába tartozik, melyek transzkripció faktorokként ligandfüggő módon szabályozzák célgénjeik átírását. Ligand hiányában korepresszor molekula, ligand jelenlétében koaktivátor molekula kapcsolódik hozzájuk. Aktiváláskor dimereket képezve látják el funkciójukat. Az RXR központi szerepére utal, hogy általános heterodimerizáló partnerként van jelen a sejtben.

A jelenséget említs-kettős hibrid rendszerben vizsgáltuk, amely alkalmas fehérje-fehérje kölcsönhatások detektálására. A módszer lényege, hogy CV-1, fibroblaszt típusú sejtekbe kationos liposzómával transzfektáltuk a vizsgálni kívánt fehérjét kódoló plazmidokat. A transzfekció után 6-8 órával végeztünk ligandkezelést, majd 24 óra elteltével a sejteket lizáltuk és a lizátumból β -galaktozidáz-, valamint luciferáz aktivitást mértünk. A módszert egyfelől transzaktivációs vizsgálatokhoz alkalmaztuk, mely során a magreceptor-komplexek különböző ligandkezelések hatására kialakuló aktivációs-képesség változásait tanulmányoztuk. Másfelől, az interakciós kísérletek segítségével a ligandok, köztük az LG1208, a receptor-kofaktor kapcsolatra gyakorolt hatását is vizsgáltuk.

Eredményeink alapján elmondható, hogy a tanulmányozott LG1208 molekula az általunk vizsgált sejtmagreceptor rendszerekben kompetitív antagonistaként viselkedik, melyet mind a kofaktorkötési, mindpedig az aktiválási vizsgálatok vizsgálatok is megerősítettek. Az új, eddig még nem karakterizált RXR-ligand hatásmechanizmusának megismerése hosszabb távon eszköz lehet a magreceptorok bonyolult működésének, illetve szabályozásának megértésében, működésük általános mechanizmusára vonatkozó modell felállításában, valamint az RXR-heterodimerek által szabályozott célgének transzkripciójának molekuláris szintű vizsgálatában.

MOLBIOL1-5

Egy feltáratlan jelátviteli lépés növényekben: a RRK1 receptor-szerű citoplazmatikus kinázzal kölcsönható fehérjék vizsgálata

Fodor Csilla

V. évf., biológus

SZTE TTK, MTA SZBK Növénybiológiai Intézet

témavezető: Dr. Fehér Attila

A növényi sejtekben zajló jelátviteli folyamatok fontos szereplői a receptor-szerű kinázok (RLK). Ezek egyik speciális típusát alkotják az extracelluláris ligandkötő és a transzmembrán doménnel sem rendelkező receptor-szerű citoplazmatikus kinázok (RLCK), melyekről kevés ismerettel rendelkezünk. Kutatásaink célja az ebbe a típusba tartozó *Medicago truncatula* RRK1 kináz jellemzése és az általa szabályozott folyamatok megismerése a kinázzal kölcsönható fehérjék jellemzésén keresztül. Eddig hat különböző fehérjének a RRK1 kinázzal való kölcsönhatását erősítettük meg az élesztő két-hibrid rendszer és részben *in vitro* vizsgálatok segítségével.

Az azonosított fehérjék egyike BTB/POZ (broadcomplex, tramtrack, bric-a-brac, pox virus, zinc-finger) fehérje-fehérje kölcsönhatásért felelős domént hordoz, amely számos protein jellegzetes motívuma. A teljes hosszúságú BTB/POZ cDNS szekvenciát (MtPOZ) lucerna mRNS-ekről átirított cDNS-ek közül PCR-rel izoláltuk, majd donor vektorba klónoztuk. Célunk, hogy baktérium expressziós vektorokba klónozva és megfelelő peptid "tag"-gel ellátva fehérjét termeltessünk. Ezt követően *in vitro* vizsgálhatjuk, hogy a RRK1 fehérje képes-e a MtPOZ-fehérjét foszforilálni. A teljes hosszúságú MtPOZ cDNS élesztő két-hibrid vektorba történő klónozása révén lehetőségünk nyílt a kinázzal való kölcsönhatásának megerősítésére és egyéb kölcsönható partnereinek azonosítására. Ezzel párhuzamosan génexpressziós vizsgálatot is végeztünk kvantitatív "valós idejű" PCR-rel. Kísérletünkben a MtPOZ gén expressziója a gyökérben szignifikánsan magasabb volt a szárban, a levélben, a virágban és a sejtuszpenzióban mért értékeknél, és csíranövényekben megnövekedett CdCl₂, ABA és GA₃ hatására.

A fehérje funkciójának meghatározásához beszereztünk egy *Arabidopsis thaliana* T-DNS inszerciós mutáns magjait. A magokból kikelt növények leveléből DNS-t izolálva PCR-rel választottuk ki a homozigóta növényeket. Ezek magjait eltérő körülmények között csíráztatva a csíranövényeken fenotípusbeli változást vártunk, de mikroszkopikusan és makroszkopikusan sem találtunk látható eltérést a kontroll (vad típusú) lúdfűhöz képest.

A továbbiakban folytatjuk a MtPOZ fehérje *in vitro* és *in vivo* jellemzését, tervezzük a POZ fehérje intracelluláris (citoplazmatikus) lokalizációjának meghatározását GFP fehérjéhez fuzionálva, illetve transzgenikus növények előállítását. Arra keressük a választ, hogy a BTB/POZ doménnel rendelkező fehérje hogyan kapcsolódik a növényi jelátviteli hálózatba.

Antidepresszáns szerek génexpressziós mintázatra gyakorolt hatásának vizsgálata

Gyülvézi Gábor

V. évf. biológus

SZTE TTK, MTA SZBK Funkcionális Genomika Laboratórium

témavezető: Dr. Puskás László

A betegségek kifejlődésének, illetve a kezelésükre használt gyógyszerek hatásmechanizmusának pontosabb megértéséhez elengedhetetlen megismerni a sejtekben lejátszódó génexpressziós változásokat. A génexpresszióban bekövetkező változások detektálására kiválóan alkalmas módszer a DNS chip technika, melynek segítségével globális génexpressziós vizsgálat végezhető. Kontroll, haloperidollal és riszperidonnal kezelt *Rattus norvegicus* agyából preparált RNS mintákkal dolgoztunk a kísérlet során. Fluoreszcensen jelölt patkány cDNS-t használtunk, melyet patkány génspecifikus oligo chipre hibridizáltunk. Azokra a génekre fókuszáltunk, melyek eltérő kifejeződést mutattak a már említett szerekkel kezelt beteg állatok esetében a kontrollhoz viszonyítva. A DNS chip technika segítségével azonosítottuk a különböző gének esetén bekövetkező expressziós változásokat, majd real-time PCR (RT-PCR) alkalmazásával erősítettük meg eredményeinket.

Kísérlet lépései:

1. Totál RNS izolálás patkány agyból.
2. Az így nyert RNS -t reverz transzkripcióval cDNS-é írtuk át.
3. Ezután specifikus enzimek segítségével egy olyan szekvenciát építettünk hozzá, melyhez képes bekötődni a fluoreszcens festék a hibridizáció során.
4. Hibridizáció. Ekkor a lapkán rögzített oligonukleotidokhoz a velük komplementer szekvenciák bekötődnek. Egy második hibridizációs lépés során a kb. 500 festékmolekulát tartalmazó gömbszerű óriás molekula kötődött be.
5. Lézeres detektálás, mely során a mennyiségi különbségek színintenzitásbeli változásokat idéznek elő.
6. Adatfeldolgozás.
7. A kapott represszánt illetve over-expresszánt génekre specifikus primereket terveztünk, melyeket a RT-PCR során használtunk fel eredményeink igazolására.

A kalcineurin az ERK 1/2 aktivitását szabályozva befolyásolja a porcképződést

Juhász Tamás

V. évf. biológus/orvosbiológus

DE OEC Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet

témavezető: Dr. Zákány Róza

Kísérleteink során csirkeembriók végtagtelepeiből izolált kondroprogenitor sejtekből előállított primer sejt kultúrákon vizsgáltuk, hogy a H_2O_2 -dal kiváltott oxidatív stressz hogyan befolyásolja az *in vitro* porcdifferenciációt szabályozó jelátviteli útvonalakat. A kultúrákban keletkezett porcszövetet a porcmátrixban nagy mennyiségben jelenlevő proteoglikánokat kimutató metakromáziás festéssel, a porcdifferenciáció mértékét pedig a porcra specifikus proteoglikán, az aggregán core proteinének mRNS-ét demonstráló RT-PCR reakcióval ítéltük meg. Megállapítottuk, hogy az oxidatív stressz jelentős mértékben csökkenti a kultúrákban keletkező porc mennyiségét. Ez a gátlás nem a H_2O_2 esetleges citotoxikus hatásának következménye, ahogyan azt a sejteken végrehajtott viabilitási és proliferációs mérések bizonyítják.

Ismert, hogy az egyik fontos protein foszfatáz, a Ca^{2+} -kalmódulin dependens PP2B (kalcineurin) szerepet játszik a porcdifferenciáció szabályozásában és ez az enzim érzékeny az oxidatív stresszre is. Immunoblotok segítségével kimutattuk a kultúrákban a kalcineurin jelenlétét, enzimaktivitási mérésekkel pedig az enzim működését is bizonyítottuk. Eredményeink azt mutatják, hogy a differenciált porcsejtekben alacsonyabb a kalcineurin expressziója és aktivitása. Oxidatív stressz hatására csökken a kalcineurin RT-PCR-rel detektálható mRNS expressziója, immunoblottal kimutatható fehérje mennyisége, valamint enzimaktivitása. Továbbá, amikor a kalcineurin specifikus inhibitorát, a ciklosporin A-t (CSA) adtuk a tenyésztő médiumhoz, az jelentősen csökkentette a 6. napon detektált porc mennyiségét. A kalcineurin szerepet játszik az ERK1/2 aktivitásának szabályozásában is, valamint ismert, hogy ez a MAPK a kondrogenezisre gátló hatású. Immunoblotok segítségével igazoltuk, hogy az ERK1/2 foszforiláltsága, így feltehetőleg aktivitása is fokozódik oxidatív stressz hatására. Ugyancsak fokozott ERK foszforilációt váltott ki a kultúrák CSA-val történő kezelése. Emellett a MEK-1inhibitora a PD098059 egyaránt kivédte a H_2O_2 és a CSA kezeléseket porcmennyiséget csökkentő hatását. Eredményeink arra utalnak, hogy a kalcineurin fiziológiás körülmények között és oxidatív stressz kapcsán is ERK1/2-útvonal modulálásán keresztül hat a porcképződésre.

Gab fehérjék szerepe a BCR-hoz kötött jelátviteli utakban egér B sejtvonalakban

Maus Máté

V. évf. biológus

ELTE TTK Immunológia Tanszék

Témavezető: Dr. Sármay Gabriella

Élő szervezetben polivalens antigének képesek lehetnek a B sejt receptorok keresztükötésén keresztül megváltoztatni a rájuk specifikus B sejtklónok működését. A sejtes szinten is megfigyelhető válasz minőségét a reakcióban résztvevő receptorokon keresztül a külvilág és a sejtmag között kapcsolatot létesítő molekuláris jelátviteli készülék alakítja. Éretlen B sejtek a csontvelőben előforduló autoantitestekre apoptózissal reagálnak. Ezzel szemben a naiv perifériás B sejtklónok BCR-eik keresztükötésére proliferációval, sejtéréssel reagálnak. Kísérleteinkben az éretlen és érett B sejtek eltérő sejtválaszának jelátviteli hátterét kívántuk feltárni, különös tekintettel a Gab adaptor molekulák szerepére. A modellként használt 38C13 és X16C sejtvonalakat sejt felszíni antigének (mIgM, mIgD, CD21, CD23, HSA) eloszlása alapján fenotipizáltuk. Megvizsgáltuk a BCR sejt felszíni lokalizációjának változását keresztükötésre. Összehasonlítottuk az Erk és Akt foszforilációs mintázatokat, mint fő túlélési szignálokat a két sejtvonalban. Megállapítottuk, hogy az általunk vizsgált sejtekben Gab1 nem, de Gab2 előfordul. Megvizsgáltuk a Gab2 által összetartott komplex alakulását BCR keresztükötésre. Eredményeink alapján a 38C13 sejtvonal jó modellje az éretlen sejteknek, míg az X16C sejtvonalban egy furcsán viselkedő érett jellegű vonalra lertünk. Az Akt és Erk foszforiláció a 38C13 sejtekben erős, de 120 percre lecsengő. X16C sejtekben az Erk és Akt szignál már 15 perc után lecseng. A Gab2 molekula 38C13 sejtekben aktiválás hatására foszforilálódik és asszociálódik a PI3K és SHP2 molekulákkal, PI3K specifikus gátlószerezrel (wortmanin) gátlható a komplex létrejötte. X16C sejtekben BCR keresztükötésre nem jön létre Gab2 által összetartott komplex. A Gab2 komplex létrejöttében szerepe lehet a Lyn Src-típusú kinázoknak. Következtetésünk szerint a Gab2 adaptor molekula résztvesz a túlélési jelek erősségének szabályozásában B sejtekben.

Környezeti hatások és tumor-indukciós modellek

Nagyéri György

IV. évf., biológus szak

SZTE TTK Összehasonlító Élettani Tanszék,

Témavezető: Dr. László Ferenc, Dr. Gálfi Márta

Ismeretes, hogy az indukált elektromágneses erők (iEM) olyan környezeti tényezők, amelyek potenciálisan módosítják a biológiai rendszerek működését. Az élőlényekben iEM hatására kialakuló biológiai rendszerváltozások determináltak, egyrészt a közölt környezeti energiaterhelés frekvenciája, kumulatív energia tartalma, másrészt a biológiai válaszmechanizmusban érintett szövettípusok minősége által.

Jelen vizsgálatunk során célul tűztük ki annak tanulmányozását, hogy a környezeti terhelésként fellépő indukált elektromágneses erőter (iEM) hatások biológiai vonatkozásait vizsgáljuk a sejt-transzformáció és/vagy következményesen a tumor-indukció szempontjából.

Munkánk során egyrétegű primer sejtenyészeteket (neurohypophysis, adenohipophysis, hepatocytá) használtunk modellként, amelyeket Wistar patkányok megfelelő szövetmintáiból preparáltunk. Kísérleteink során a különböző csíralemez eredetű sejt kultúrákat 10 napon át kezeltük (0,15 µg/ml) klórbenzollal és/vagy iEM (E=50 µT; u=60) hatásnak tettük ki 8 napon keresztül (8 óránként/nap). A kísérleti mintákat tumorelles anyagokkal (krocin /1mg/ml/ + retinsav /25mM/) kezelve ellenőriztük a standard antitumor hatásokat. A tumoros sejtek felszíni antigén-mintázatának módosulását rekultivációs technikákkal ellenőriztük. Detektáltuk még a sejt kultúrák proliferációs aktivitásainak módosulásait, a fehérje- (Lowry szerint) és DNS (³H-Thymidine inkorporáció) tartalom meghatározásával. A tumoros sejttranszformáció mértékét tumorklónok számával jellemeztük.

Eredményeink szerint a vizsgált sejt kultúráknál az önálló kezeléseket (klórbenzol, EM), valamint az iEM kitettséget követő CIB hatására nem detektáltunk tumoros elváltozásokat, sem erre utaló sejtproliferációs eseményt. A klórbenzol kezelést követően alkalmazott iEM hatás, a választott sejt típusoknál tumoros elváltozásokat okozott, a sejtspecifitásnak megfelelő mértékben. A sejt differenciáltató retinsav és sejtmembrán stabilizáló krocin hatására, az irodalmi adatokkal összhangban csökkent a tumoros klónok száma. A kialakított tumormodelleknél a sejt típusok felszíni antigén-mintázatának módosulásai is transzformációs eseményekre utaltak.

Eredményeink alapján megállapítható, hogy a klórbenzollal előkezelt sejteken alacsony frekvenciájú iEM hatására kialakul a sejttranszformációs elváltozás. Az említett környezeti terhelésekkel olyan tumorindukciós modellt sikerült kialakítanunk, amely standard módon reagált nemzetközileg igazolt tesztljárásokban.

Tight junction proteinek expressziója primer és secuder májtumorokban

Orbán Erika
IV. évf. biológus
ELTE TTK, SE II. sz. Patológiai Intézet, Molekuláris Patológiai laboratórium
témavezetők: Dr. Schaff Zsuzsa, Dr. Páska Csilla

A tumoros folyamatok progressziójában fontos szerepe van a sejtkapcsolatok megváltozásának. Ezen folyamatok tanulmányozására a tight junctiont (TJ) alkotó integráns membránfehérjék (claudinok, occludin, junctional adhesion molecule (JAM)-1,2,3), valamint ezen fehérjéket a sejtvezhöz kapcsoló zonula occludens (ZO)-1,2,3 kifejeződését vizsgáltuk.

Célul tűztük ki a TJ alkotó fehérjék mRNS expressziójának vizsgálatát humán hepatocelluláris carcinomákban (HCC) és bédaganatok májmetasztázisaiban a környező tumormentes májszövethez ill. normál májhoz viszonyítva.

A vizsgálatokhoz 13 HCC-t és környező májszövetet, 12 colon metasztázist és környező májszövetet, továbbá 7 normál májmintát használtunk. Az RNA laterben fixált mintákból RNS-t izoláltunk Trizol módszerrel, meghatároztuk az mRNS mennyiségét Real-Time PCR-rel a háztartási gén pool-hoz viszonyítva. A fehérjeexpressziót immunhisztokémiai módszerrel vizsgáltuk.

A HCC-ben a normál májhoz képest szignifikánsan csökkent a ZO-2 (15,3x) és a JAM-2 (5,9x) szintje. Metastasisban normál májhoz képest szignifikánsan nőtt a claudin-4 (12,7x) és csökkent a ZO-2 (9,6x) és JAM-2 (18,6x). A normál szövet és a tumormentes környező szövetek eltérnek a ZO-2 és JAM-2 expresszióban. A két tumor környéki szövet JAM-2 expresszióban tért el. A primer és secuder tumorban szignifikánsan eltér a claudin-1, -3, -4 szintje. A HCC a környezetéhez képest kevesebb ZO-2-t és JAM-2-t tartalmaz, míg a metastasis a környező szövetéhez képest eltér a claudin-1, -3 és -4 expresszióban.

A normál májban a TJ fehérjék az epeutakban és az arteriolákban jelennek meg. A HCC-ben erősen megjelenik a claudin-1, -7 és occludin, gyengén a claudin-2 és ZO-1. A metastaticus tumorban kifejeződik a claudin-1, -3, -4, -7 és az occludin, míg a környező szövetek claudin-1, -2 és -3 pozitívak.

A sejtkapcsolatok változásával párhuzamosan egyes TJ alkotók mRNS kifejeződése csökken; ez a TJ szelektív átteresztő funkciójában is minőségi változást hozhat. A primer és áttéti tumorok TJ profilja különbözőképpen változik, mely biológiai tulajdonságainak különbözőségére utal. Ezek alapján további vizsgálataink a többi TJ protein fehérje és mRNS szintű tanulmányozására irányulnak, illetve azok kolokalizációjának vizsgálatára.

A syndecan-1 szerepe a malignus fenotípusban

Péterfia Bálint
V. évf. biológus
ELTE TTK, SE I.sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet
témavezető: Dr. Kovalszky Ilona

A sejt felszíni heparánszulfát proteoglikánok egyik családja a syndecanok családja. Heparánszulfát glukozaminoglükán cukorfáncaikkal növekedési faktorokat és az extracelluláris mátrix sok komponensét kötik meg, amelyek így a sejt felszínén feldúsulnak. A syndecanok extracelluláris doménje levágódhat, ez a jelenség a shedding, amely eltávolítja a sejtől a megkötött ligandokat. Intracelluláris doménjük kapcsolódhat az aktin hálózattal és a sejtben jelátvitelt indíthat. A syndecan-1 a fejlődéskor már a négysejtes stádiumban megjelenik, maximális mennyiségét a morfogénikus fázisban éri el, epitheliális sejtekre jellemző. Tumorokban expressziója megváltozik, de az már a tumor típusától függ, hogy nő vagy csökken. A syndecan-1 nagy mennyisége bizonyos daganatféléseknél jó, másoknál rossz prognózist jelent.

A syndecan expresszió változásainak jobb megértéséhez olyan transzfektáns tumorsejteket hoztunk létre, amelyek fokozott mértékben fejezték ki a teljes syndecan-1-et, vagy annak csak bizonyos részét. Korábban hepatóma sejteken (HepG2, Hep3B) azt tapasztaltuk, hogy a teljes syndecan-1 lassította a sejtek növekedését, az extracelluláris doménjében megrövidített syndecan-1 pedig differenciálta őket: morfológiájuk hepatocita-szerű lett és albumint termeltek. Egy másik sejtvonalnál, a HT-1080 nevű fibroszarkóma sejteknél viszont ellentétes hatást váltott ki a transzfektálás. Tumorképző, metasztatizáló és proliferációs képességük egyaránt fokozódott, migrációjuk és adhéziójuk pedig kisebb mértékű lett. A teljes syndecan-1-el transzfektált HT-1080 sejtek egérbe oltás után többször is jellegzetes nyaktájéki lokalizációjú áttétet adtak, míg a többi transzfektáns nem.

A syndecan túltermelő sejtek viselkedése összhangban van a daganatok syndecan-1 expressziójáról ismert adatokkal és arra utal, hogy a syndecan-1 hatás attól függ, hogy milyen sejtben fejeződik ki.

A syndecan-1 szerepe a malignus fenotípusban

Péterfia Bálint

V. évf. biológus

ELTE TTK, SE I.sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet

témavezető: Dr. Kovalszky Ilona

A sejtfelszíni heparánszulfát proteoglikánok egyik családja a syndecanok családja. Heparánszulfát glükozaminoglükán cukorláncokkal növekedési faktorokat és az extracelluláris mátrix sok komponensét kötik meg, amelyek így a sejt felszínén feldúsulnak. A syndecanok extracelluláris doménje levágódhat, ez a jelenség a shedding, amely eltávolítja a sejtől a megkötött ligandokat. Intracelluláris doménjük kapcsolódhat az aktin hálózattal és a sejtben jelátvitelt indíthat. A syndecan-1 a fejlődéskor már a négysejtes stádiumban megjelenik, maximális mennyiségét a morfogénikus fázisban éri el, epitheliális sejtekre jellemző. Tumorokban expressziója megváltozik, de az már a tumor típusától függ, hogy nő vagy csökken. A syndecan-1 nagy mennyisége bizonyos daganatféleségeknél jó, másoknál rossz prognózist jelent.

A syndecan expresszió változásainak jobb megértéséhez olyan transzfectáns tumorsejteket hoztunk létre, amelyek fokozott mértékben fejezték ki a teljes syndecan-1-et, vagy annak csak bizonyos részét. Korábban hepatóma sejteken (HepG2, Hep3B) azt tapasztaltuk, hogy a teljes syndecan-1 lassította a sejtek növekedését, az extracelluláris doménjában megrövidített syndecan-1 pedig differenciálta őket: morfológiájuk hepatocita-szerű lett és albumint termeltek. Egy másik sejtvonalnál, a HT-1080 nevű fibroszarkóma sejteknél viszont ellentétes hatást váltott ki a transzfectálás. Tumorképző, metasztatizáló és proliferációs képességük egyaránt fokozódott, migrációjuk és adhéziójuk pedig kisebb mértékű lett. A teljes syndecan-1-el transzfectált HT-1080 sejtek egérbe oltás után többször is jellegzetes nyaktájéki lokalizációjú áttétet adtak, míg a többi transzfectáns nem.

A syndecan túltermelő sejtek viselkedése összhangban van a daganatok syndecan-1 expressziójáról ismert adatokkal és arra utal, hogy a syndecan-1 hatás attól függ, hogy milyen sejtben fejeződik ki.

MOLBIOL2-1

Egy növényi protein foszfatáz 2A inhibitor fehérje (SET) funkcionális vizsgálata

Bíró Judit

V. évf. biológus

SZTE TTK, MTA SZBK Növénybiológiai Intézet

témavezető: Dr. Fehér Attila

A fehérjék foszforilációja és defoszforilációja az élőlények egyik legalapvetőbb molekuláris szabályozó mechanizmusa. Ezeket a folyamatokat különböző aktivitással és specificitással rendelkező kináz illetve foszfatáz enzimek katalizálják. A foszfatázok között a protein foszfatáz 2A (PP2A) enzimek olyan szerin/treonin foszfatázok, amelyek közvetlenül vagy közvetve szinte valamennyi alapvető sejtfunció szabályozásában részt vesznek. Éppen ezért aktivitásuk pontos szabályozása alapvető fontosságú a sejtek számára. A NAP/SET fehérjéről ecetmuslica sejtekben kimutatták, hogy a PP2A olyan potenciális inhibitorai, melyek szerepet játszhatnak a kromatinszerveződés és ezen keresztül a génkifejeződés szabályozásában.

Laboratóriumunkban azonosítottuk a lucerna (*Medicago sativa* L.) SET fehérjét kódoló cDNS szekvenciáját. Megállapíthattuk, hogy a kódolt fehérje elsődleges szerkezete rendkívül hasonló a más eukarióta szervezetekből azonosított rokon fehérjékével. A Debreceni Egyetem Orvosi Vegytani Intézetével együttműködve a lucerna fehérjét tisztítottuk, majd nyulakban a fehérjét felismerő specifikus ellenanyagot állítottunk elő. Megvizsgálva a tisztított fehérje hatását a PP2A enzim aktivitására a mérések azt mutatták, hogy a SET fehérje a protein foszfatáz 2A enzimaktivitását a hiszton H2A szubsztráttal szemben specifikusan gátolta. További kutatásaink fő célja a növényi SET fehérje celluláris és molekuláris jellemzése és biológiai funkciójának meghatározása. Vizsgáltuk a lucerna SET gén kifejeződését és meghatároztuk a fehérje szintjét különböző növényi szövetekben és stressz kezeléseket követően. Immunhisztokémiai kísérleteink és a GFP::SET fúziós fehérje sejten belüli lokalizációjának vizsgálata egyértelműen igazolták, hogy a lucerna és Arabidopsis SET fehérjék a sejtmagban lokalizálódnak. Ez alátámasztja azt a feltételezést, hogy az általunk vizsgált protein a hisztonok foszforilációjának szabályzásán keresztül a génaktivitást befolyásolhatja. Ennek igazolására "real-time" kvantitatív PCR technikával vizsgáltuk különböző gének kifejeződését a SET fehérjét túltermelő Arabidopsis növényekben. A génexpressziós vizsgálatok eredményeként valóban jelentős különbségeket figyelhettünk meg a gének kifejeződésében a kontroll és a transzgenikus növények között. Az eredmények megerősítése és a fehérje funkciójának pontosabb megértése érdekében azonban további kísérletek elvégzésére van szükség.

Környezeti stresszhatások vizsgálata ponty (*Cyprinus carpio*) különböző agyrégióiban

Ferencz Ágnes
V. évf. biológus
SZTE TTK Biokémiai Tanszék
témavezető: Dr. Hermes Edit

Az ipari és a mezőgazdasági szennyezés mértéke minden próbálkozás és tiltakozás ellenére még napjainkban is igen jelentős. A környezetünkben egyre nagyobb mértékben felhalmozódó nehézfémek (pl. Cd, Pb, As) és vegyületeik, mivel nem "biodegradálisanak" igen nagy kihívást jelentenek valamennyi élőlény számára. Fokozott nehézfém terhelésnek van kitéve a folyó és állóvizeink élővilága, különös tekintettel a táplálkozási lánc csúcán lévő halakra, mivel egyrészt a táplálékkal együtt felhalmozzák testükben az idegen mérgező anyagokat, másrészt kopoltyújukkal, bőrükkel állandó, szoros kapcsolatban vannak a vízben oldott anyagokkal.

A környezetünk fizikai és kémiai paramétereinek változásai egy sor olyan fehérje szintézisét indítják be a sejtekben, melyek feladata a toxikus anyagok elkülönítése, a sejt fehérjéinek és membrán rendszerének a védelme. Dolgozatomban három, a stressz-válaszadásban résztvevő fehérjét kódoló gén metallothioneinek (MT-I, MT-II) és az őket szabályzó transzkripció faktor (MTF) vizsgálatát foglalom össze.

A metallothioneinek nagy fémkötő kapacitással rendelkező fehérjék, melyek jelentős szerepet töltenek be az esszenciális fémek homeosztázisának fenntartásában és a mérgező nehézfémek detoxifikálásában. A szabályozásukban szerepet játszó MTF géntermékről viszonylag kevés információ áll rendelkezésünkre. Halakban eddig két fajban történt meg az azonosításuk, szöveti eloszlásuk, szabályozásuk kevésbé ismert.

Kísérleteinket *in vivo*, kifejlett állatokkal végeztük így az eredményeink valószínűleg jól közelítik az ökoszisztémában bekövetkező változások hatásait.

Eredményeink: azonosítottuk a ponty MTF génjének egy 900 bp hosszú szakaszát. Vizsgáltuk az MTF és két a MT izoformát kódoló gén expresszióját eltérő toxicitású fém (Cd, Pb) terhelést követően a cerebellumban, melynek védelmében kiemelkedő funkciót láthat el a vér-agy gát, és a szagló lebenyben, ahol ez a védő funkció nem érvényesül. A fizikai stresszhatások közül a hirtelen hőmérséklet csökkenés hatását követtük a fent említett agy régiókban. Vizsgáltuk továbbá a Cd toxikus hatását hideg "előkezelést" követően. Az MTF és MT gének expressziója stressz- és agyrégió specifikust mutat. Hideg kezelést követően a Zn háztartás felborulása jelentősen befolyásolta mind a három, általunk vizsgált gén expresszióját.

MOLBIOL2-3**A megtermékenyítés genomikája: cDNS bankok létrehozása búza petesejtekből, zigótákból és azok genomikai vizsgálata**

Ignáth Imre

V. évf. biológus

SZTE TTK Növényélettani Tanszék

témavezető: Dr. Fehér Attila, Dr. Pécsváradi Attila

Vizsgálataink egyik legfontosabb gazdasági növényünk, a búza (*Triticum aestivum*), reprodukciós folyamataira, a megtermékenyítésre, embrióképződésre és ezen folyamat genomikai hátterének feltárására irányulnak. Célküldéseink közé tartozik a petesejt érésakor, a megtermékenyülés alatt és ezt követően lezajló változások feltárása génextpressziós szinten.

Ennek megvalósításához olyan géneket keresünk, amelyek specifikusan az érett és éretlen petesejtben, valamint a zigótában fejeződnek ki. Megközelítőleg 50db izolált sejtől indultunk ki. A sejtek izolálására a MTA Mezőgazdasági Kutatóintézetének Sejtbiológiai Csoportjában került sor. A különféle fejlődési stádiumú sejtekből cDNS-könyvtárat hoztunk létre a mRNS-ek cDNS-é történő visszairásával. Eddig az érett petesejtől származó cDNS-könyvtár készült el. A cDNS fragmentumokat irányítottan fág karokhoz ligáltuk, a fág fehérjék hozzáadásával létrehoztunk magát a fagot, amely hordozza a búza cDNS molekulákat. A fágokban létrehozott cDNS-könyvtárat jellemeztük a méret, az üres fág vektorok aránya és az átlagos inszert hosszúság alapján. A petesejtben működő génekről a cDNS szekvenciák (EST, "Expressed sequence tag") meghatározásával nyerhetünk információt. Ehhez a fágokat plazmiddá alakítottuk egy megfelelő baktérium törzs fertőzése révén. Mintegy 600 független baktérium kolóniából plazmid DNS-t tisztítottunk. A plazmid molekulák által hordozott EST-k méretét polimeráz láncreakciót (PCR) követően agaróz-gélelektroforézissel meghatároztunk. Ezt követte a bioinformatikai analízis, a szekvenciák annotálása, adatbázis létrehozása. Az így elkészített adatbázis alkalmas más adatbázisokkal való összevetésre és a nem-petesejt/zigóta specifikus gének kiszűrésére. Eddigi vizsgálataink eredményei alapján azonosítottunk több olyan gént, amelyek feltehetően specifikusan a petesejtben expresszálódnak. Ezek egyikét választottuk ki további részletes analízisre. A géntermék az ubiquitin fehérjecsald tagja, ami a fehérjék lebontásában játszik szerepet. Valós idejű („real time”) kvantitatív PCR segítségével igazoltuk, hogy a gén valóban specifikus és magas szintű expressziót mutat petesejtben és fiatal (24 órás) zigótában.

Elkezdtek a gén promóter régióinak az azonosítását is. További terveink között szerepel a megtermékenyítést követően aktiválódó gének azonosítása és további funkcionális tesztek elvégzése. Végső célunk, hogy ismereteket és eszközöket biztosítsunk a megtermékenyítés nélküli embriogenezis (apomixis, parthenogenezis) mesterséges kiváltásához. Ezzel olyan eljárások megalapozása kezdődhet meg, amelyek lehetőségeket adnak genetikailag stabil, egyöntetű, betegségekkel, környezeti hatásokkal szemben ellenálló, megbízható hozamot produkáló fajták illetve hibridek termesztésére.

A *cand1/tip120* gént érintő mutáció pleiotropikus fenotípusának vizsgálata *Arabidopsis thaliana*-ban

Kiss Éva
V. évf. biológus
SZTE TTK, MTA SZBK Növénybiológiai Intézet
témavezető: Dr. Szabados László

A proteaszóma által végzett proteín degradáció előfeltétele a szubsztrát fehérje poliubiquitinációja, melyet az E3 ubiquitin ligáz, az SCF komplex (Skp1, Cullin1, Rbx1, F-box protein) végez. Az SCF komplex működésében fontos szabályozó lépés a Cullin1 fehérje beépülése, amely a fehérje neddilált állapotában történik, ha azonban a Cullin1 deneddilálódik, a CAND1 fehérje köti, és így megakadályozza, hogy az SCF komplexbe beépüljön. A CAND1 fehérjét először patkánymájban mutatták ki, mint TBP kölcsönható fehérje, aminek a transzkripció iniciációjában van szerepe (TBP interacting protein, TIP120).

Munkacsoportunkban korábban T-DNS inszerciós mutagenézissel nagyszámú *Arabidopsis thaliana* mutáns vonalat állítottak elő. A transzformációt *Agrobacterium* törzssel végezték, amely T-DNS-se véletlenszerűen képes beépülni a gazdanövény genomjába. A különböző T-DNS inszerciós helyek jellemzése során sikerült a *h911* jelű *Arabidopsis* mutáns vonalat azonosítani, amelyben az inszerció a *cand1* génben következett be (Szabados, és mtsai. 2002.). A homozigóta mutánsok törpenövésű fenotípust mutattak, amelyekre a vad típusúhoz képest kisebb méretű virág, és erősen redukált szaporítóképeség jellemző.

Részletesebb fenotípus vizsgálatok felfedték, hogy a mutáns növények a vad típusúhoz képest eltérően reagálnak különböző glükóz, illetve szaharóz koncentrációkra. Gyökérhossz növekedés, ill. oldalgyökér képzés vizsgálata auxinos kezelés alatt, a mutáns növény esetében erős auxin rezisztenciát mutatott. A *cand1* gén mutációja következtében kialakult hibás auxin válasz oka feltételezhetően visszavezethető a CAND1 fehérje SCF komplex működésében betöltött szerepére, mivel számos auxin-indukált gén termékének degradációja proteaszóma révén történik. A mutáns növény a vad típustól eltérő epidermisz sejt morfológiát, eltérő légcserenyílás-eloszlást mutatott, valamint trichomái abnormális struktúrájúak, amely valószínűleg hibás sejtosztódási mechanizmus eredménye.

A részletes fenotípus jellegek bemutatása után, szeretnénk a *h911*-es mutáns molekuláris biológiai jellemzését elvégezni, amelyet DNS mikroarray kísérlet, és in silico transzkriptóm analízissel kezdünk.

MOLBIOL2-5

A humán ABCG2 multidrog rezisztencia fehérje transzport-specifikus mutánsai

Köblös Gabriella

IV. évf. biológus

ELTE TTK, OGYK Molekuláris Sejtbiológia Osztály, MTA SZBK Enzimológiai Intézet
témavezetők: Dr. Laczka-Özvegy Csilla, Dr. Váradi András

A humán ABCG2 multidrog transzporter az ABC (ATP Binding Cassette) fehérjecsaládba tartozó plazmamembrán glikoprotein, amely az ATP hidrolíziséből származó energiát hasznosítva képes különféle anyagok (citosztatikumok, fluoreszcens festékek, stb.) sejtekből kifelé irányuló transzportjára. A fehérje fiziológias szerepe valószínűleg a szervezet méregtelenítésében illetve mérgekkel szembeni védelmében nyilvánul meg. Az ABCG2 működése különösen jelentős lehet az őssejtekben és a placentában, ahol a fehérje magas szinten expresszálódik. Az ABCG2-nek fontos szerepe lehet továbbá a daganatok kemoterápia-rezisztenciájában is. Egyes, különböző citosztatikumokkal szelektált sejtvonalakban az ABCG2 fehérjében mutáció következett be, amely minden esetben ugyanazon aminosavat, a 482-es pozícióban lévő Arg-t érintette. Kimutatták, hogy a mutáns változatok a vad-típushoz (R482) képest megnövekedett transzport kapacitással és megváltozott szubsztrát-felismeréssel bírnak. Annak érdekében, hogy megvizsgáljuk, a 482-es pozícióban található aminosav oldallánc minősége hogyan befolyásolja a fehérje működését, más-más aminosav karaktert képviselő R482 mutánsokat állítottunk elő. Az R482G, I, M, S, T, D, N, K és Y mutánsokat rovarsejtekben termeltettük. Azt találtuk, hogy mindegyik változat aktív, hiszen rendelkezik az ABCG2-re jellemző ATP hidrolizáló képességgel (ATP-áz aktivitás). A vizsgált ABCG2 szubsztrátok azonban eltérő hatással voltak az R482 mutánsok ATP-áz aktivitására, amely eltérő szubsztrát-specifitásra utal. Ép rovarsejteken mérve az R482 mutánsok Hoechst 33342 festék transzportját, szintén jelentős különbségeket tapasztaltunk az R482 változatok működésében. Eredményeink azt mutatják, hogy a vad-típus szubsztrát-felismerése egyedi és egyetlen aminosav csere döntően befolyásolja az ABCG2 fehérje aktivitását és szubsztrát-specifitását.

A *Drosophila* 26S proteaszóma ubiquitin-kötő alegységének vizsgálata

Lipinszki Zoltán

IV. évf. biológus

SZTE TTK, MTA SZBK Biokémiai intézet, SZTE TTK Genetikai és Molekuláris
Biológiai Tanszék

témavezető: Dr. Udvardy Andor, Dr. Boros Imre Miklós

A sérült vagy funkciót veszített fehérjék szelektív lebontása az ubiquitin-proteaszóma útvonal révén valósul meg az eukarióta sejtekben. *Drosophila melanogaster*-ben az ubiquitinált fehérjék felismeréséért és megkötéséért a 26S proteaszóma regulátor komplexének p54 alegysége felelős, míg a központi magja (CP) a fehérjék darabolását végzi. Korábbi *in vitro* kísérleteinkben bizonyítottuk, hogy a Zn^{2+} koncentráció függvényében a p54 permanens disszociáció-asszociációban van, s mintegy képes ingázni a proteaszóma és a külső reakcióter között.

Munkám során azt a feladatot kaptam, hogy létrehozzak egy, az N-terminálison CBD (kitin kötő domén) építőpárral jelölt p54 fúziós fehérjét. Ehhez első lépésben egy új vektorrendszert kellett konstruálnom, amelyben a polilinker szekvencia elé klónoztam a CBD génjét, míg utána a T ϕ -fág transzkripció terminátorát. A p54 cDNS-ét utólag illesztettem a CBD-nel egy leolvasási keretbe.

A *Drosophila* 26S proteaszóma exogén Zn^{2+} bevitelekor szubkomplexeire (regulator és katalitikus), valamint szabad p54 alegységre disszociál, de ha elvonjuk a cinket, visszaalakul a fajlagos, katalitikusan aktív egység. Célul tűztük ki annak vizsgálatát, hogy *in vitro* cink indukálta disszociációs-reasszociációs kísérletben, a nagy moláris feleslegben alkalmazott CBD-p54 fúziós fehérje képes-e beépülni a proteaszómába, kiszorítva ezzel az endogén p54-et. Kromatográfiás és immunreakciós eredményeink azt bizonyítják, hogy a Zn^{2+} elvonását követően a fúziós protein beépült a komplexbe, ezáltal a 26S proteaszóma kitin affinitás oszlopon tisztíthatóvá vált.

A továbbiakban azt szeretnénk megtudni, hogy a p54-nek melyik az a legkisebb része, amely a visszaépülésért felel. Ehhez elkészítettem a p54 N- és C-terminális felét tartalmazó CBD-nel fuzionált fehérjéket, amiből az N-terminális felet hordozó protein oldhatatlan zárvány testet alkotott, ezért a kísérletre alkalmatlan volt. A p54 C-terminális felével végzett kísérlet pedig azt bizonyította, hogy ez a darab nem képes beépülni a 26S proteaszómába Zn^{2+} elvonást követően. Tehát a p54 alegység proteaszómához történő kötődést elősegítő doménjét a fehérje aminoterminális felében kell keresni.

A fenti *in vitro* kísérletek mind előfutárai, modellezései egy komplex, s hosszú időt igénylő, transzgénikus *Drosophilákon* tervezett *in vivo* kutatásnak, ahol a 26S proteaszóma szövet és/vagy fejlődés stádium specifikus szerepének a feltérképezése a cél.

MOLBIOL2-7**Molekuláris fogantyú szintézise titin domének nanomechanikai jellemzésére**

Mártonfalvi Zsolt

IV. évf. biológus

PTE TTK, PTE ÁOK Biofizikai Tanszék

témavezető: ifj. Dr. Kellermayer Miklós, Nagy Attila

A titin moduláris felépítésű, 3,0-3,6 MDa tömegű óriásfehérje, mely az izom szarkomerben a Z-csiktól az M-csíkiig húzódik. A titin az A-szakaszban a vastag filamentumokhoz szorosan asszociált, míg az I szakaszban molekuláris rugóként feszül ki a vastag filamentumok végei és a Z-csík között. Ez a szakasz képezi a titinmolekula funkcionálisan rugalmas részét. A titin I-szakasza proximális és disztális szakaszát immunglobulin-típusú domének alkotják, melyek között egyedi szekvenciák találhatóak. A legfontosabb egyedi szekvencia a PEVK domén, ami egy prolinban (P), glutaminsavban (E), valinban (V) és lizinben (K) gazdag molekulaszakasz. A PEVK domén mérete izomtípusonként változó. A PEVK domén nem rendelkezik stabil másodlagos szerkezettel, random láncnak tekinthető. Szekvenciájában két motívum különíthető el: a 28 aminosavból álló, ún. PPAK és a zömmel glutaminsavból álló PolyE motívum.

Egyedi molekulák mechanikai vizsgálatára alkalmas módszer az atomerómikroszkópia (AFM). Az AFM segítségével történő mechanikai manipuláció során kritikusnak fontos a vizsgált molekula végeinek specifikus megfogása. Erre a problémára két megoldást dolgozunk ki. Az első esetben a molekula végein specifikus kémiai fogantyúkat alakítunk ki. A második esetben a vizsgálandó fehérjefragmentumot molekuláris biológiai módszerekkel, a tandem Ig régióból származó globuláris I27 immunglobulin domének közé illesztettük. A globuláris domének erővezérelt kitekeredése egyfajta mechanikai ujjlenyomatot ad, melyen keresztül az általunk vizsgált molekulaszakasz elasztikus tulajdonságai megismerhetőekké válnak. Munkánk során a soleus PEVK domén 6768-6840 pozíciók közé eső 72 aminosavból álló polyEPII motívum mechanikai tulajdonságait vizsgáltuk. A polyEPII motívumot kis mérete miatt duplett formájában klónoztuk, majd prokarióta rendszerben expresszáltuk. A DNS szakasz klónozását humán vázizom titin cDNS segítségével végeztük. A konstrukcióban a vizsgált PolyE szakaszt N- és C-terminálisa felől is I27 domének szegélyezik, így biztosítva annak a lehetőségét, hogy a molekulaszakaszt tényleges végeinél fogva vizsgáljuk.

A molekulakonstrukció AFM kísérletekben nemlineáris rugalmas választ adott, melyet jól modelleztünk a féregszerű (wormlike chain, WLC) polimermodell segítségével. Kísérleteink rámutatnak, hogy az alkalmazott molekuláris fogantyú alkalmas lehet egyéb titin molekulaszakaszok mechanikai jellemzésére is.

Molekuláris fogantyú szintézise titin domének nanomechanikai jellemzésére

Mártonfalvi Zsolt

IV. évf. biológus

PTE TTK, PTE ÁOK Biofizikai Tanszék

témavezető: ifj. Dr. Kellermayer Miklós, Nagy Attila

A titin moduláris felépítésű, 3.0-3.6 MDa tömegű óriásfehérje, mely az izom szarkomerben a Z-csiktól az M-csíkgig húzódik. A titin az A-szakaszban a vastag filamentumokhoz szorosan asszociált, míg az I szakaszban molekuláris rugóként feszül ki a vastag filamentumok végei és a Z-csík között. Ez a szakasz képezi a titinmolekula funkcionálisan rugalmas részét. A titin I-szakasza proximális és disztális szakaszát immunglobulin-típusú domének alkotják, melyek között egyedi szekvenciák találhatóak. A legfontosabb egyedi szekvencia a PEVK domén, ami egy prolinban (P), glutaminsavban (E), valinban (V) és lizinben (K) gazdag molekulaszakasz. A PEVK domén mérete izomtípusonként változó. A PEVK domén nem rendelkezik stabil másodlagos szerkezettel, random láncnak tekinthető. Szekvenciájában két motívum különíthető el: a 28 aminosavból álló, ún. PPAK és a zömmel glutaminsavból álló PolyE motívum.

Egyedi molekulák mechanikai vizsgálatára alkalmas módszer az atomerómikroszkópia (AFM). Az AFM segítségével történő mechanikai manipuláció során kritikusan fontos a vizsgált molekula végeinek specifikus megfogása. Erre a problémára két megoldást dolgozunk ki. Az első esetben a molekula végein specifikus kémiai fogantyúkat alakítunk ki. A második esetben a vizsgálandó fehérjefragmentumot molekuláris biológiai módszerekkel, a tandem Ig régióból származó globuláris I27 immunglobulin domének közé illesztettük. A globuláris domének erővezérelt kitekeredése egyfajta mechanikai ujjlenyomatot ad, melyen keresztül az általunk vizsgált molekulaszakasz elasztikus tulajdonságai megismerhetőekké válnak. Munkánk során a soleus PEVK domén 6768-6840 pozíciók közé eső 72 aminosavból álló polyEPII motívum mechanikai tulajdonságait vizsgáltuk. A polyEPII motívumot kis mérete miatt duplett formájában klónoztuk, majd prokarióta rendszerben expresszáltuk. A DNS szakasz klónozását humán vázizom titin cDNS segítségével végeztük. A konstrukcióban a vizsgált PolyE szakaszt N- és C-terminálisa felől is I27 domének szegélyezik, így biztosítva annak a lehetőségét, hogy a molekulaszakaszt tényleges végeinél fogva vizsgáljuk.

A molekulakonstrukció AFM kísérletekben nemlineáris rugalmas választ adott, melyet jól modelleztünk a féregszerű (wormlike chain, WLC) polimermodell segítségével. Kísérleteink rámutatnak, hogy az alkalmazott molekuláris fogantyú alkalmas lehet egyéb titin molekulaszakaszok mechanikai jellemzésére is.

A matrilin-1 gén szabályozó régióinak szövet- és fejlődési állapotspecifikus működésének vizsgálata transzgenikus egereken

Nagy Andrea

2004. biológia

SZTE TTK, MTA SZBK Biokémiai Intézet

témavezető: Dr. Kiss Ibolya

A matrilin-1 egy nem kollagénszerű fehérje, ami a porc szövet extracelluláris mátrixának felépítésében vesz részt. Korábbi in vitro vizsgálatok során a csirke matrilin-1 gén promoterétől 5' irányban, valamint az első intronban több szövet- és fejlődési állapotspecifikus szabályozó elemet azonosítottak. A TDK dolgozat ezen elemek funkciójának in vivo vizsgálatával foglalkozik transzgenikus egereken. Ennek érdekében a promoter és az intron különböző hosszúságú szakaszait kapcsoltuk LacZ riporter génhez, és a konstrukciókat megtermékenyített egér petesejtek hím pronukleuszába juttattuk. A transzgen expressziót X-gal festéssel vizsgáltuk az egyedfejlődés különböző stádiumaiban. A promoter régiót, valamint a promotert és az introni elemet együtt tartalmazó transzgen egyaránt porcspecifikus kifejeződést mutatott a fejlődő vázelemekben, de mindkét régió együttes jelenléte kellett az endogén génre jellemző magas szintű expresszióhoz. Fő célunk annak vizsgálata, hogy a rövid promoter önmagában is képes-e a porcspecifikus kifejeződést irányítani, illetve, hogy azonos, vagy különböző DNS szakaszok felelősek-e a szövet- és a fejlődési állapotspecifikus szabályozásért. Eredményeink alapján a 335 bp-os promoter is képes a génkifejeződést a porcsejtekben irányítani, de ez az aktivitás sokkal alacsonyabb szintű, mint a többi konstrukció esetében és nem függ a chondrocyták fejlődési stádiumától. Ugyanakkor a hosszú promoter önmagában, illetve a rövid promoter az introni szakasszal együtt egyaránt az endogén génre jellemző expressziót eredményezett. Arra következtetünk, hogy a porcspecifikus szabályozó elemek szétszórva találhatóak a gén szabályozó régiójában, a fejlődési állapotspecifikus elemek a rövid promoter előtt és az introni régióban is találhatóak.

A Titin óriásfehérje PolyEPI. szekvenciájának nanomechanikája

Szatmári Dávid
 III. évf. biológus
 PTE TTK, PTE-ÁOK Biofizikai Intézet
 témavezető: ifj. Dr. Kellermayer Miklós, Nagy Attila

A harántcsíkolt izom rugalmasságáért elsősorban a titin óriásfehérje felelős. A titin az izomszarkomer Z- és M-csíkjai között húzódó, 3-3.6 MDa tömegű fehérje. A titin fiziológiás megnyújthatóságáért elsősorban egy, prolinban (P), glutaminsavban (E), valinban (V) és lizinben (K) dús, úgynevezett PEVK domén a felelős. Különböző izomtípusokban a PEVK domén mérete differenciális hasítás miatt jelentős mértékben változik. A PEVK doménben két fő szekvencia motívum figyelhető meg. A PPAK fragmentumok és a PolyE motívumok glutaminsavban rendkívül gazdag szekvenciaszakaszok. A polyE motívumban 4-5 glutaminsavból álló szakaszok váltakoznak 4-5 nem glutamát aminosavat tartalmazó szakaszokkal. Mivel a glutaminsav oldalláncok töltöttek, várható, hogy a motívum szerkezetét, dinamikáját és mechanikáját jelentősen befolyásolja a pH és az ionerősség.

Kísérleteimben a soleus PEVK domén 18433-18648 (GeneBank) közé eső PolyEPI: motívumának rugalmasságát vizsgáltuk egyedi molekulák atomerőmikroszkóppal (AFM) való manipulálásával. A polyE motívumot humán titin cDNS könyvtárból PCR-technológia és klónozási eljárás segítségével sikeresen expresszáltuk. A kiválasztott PolyE motívum kis mérete miatt a szekvencia tandem duplikátumát hoztuk létre. A BL21 sejtekben expresszált fehérjét natív körülmények között, Ni-kelet oszlopon tisztítottuk. A mechanikai manipuláláshoz a polyE motívumot üvegfelszínre adszorbeáltuk, majd AFM segítségével nyújtottuk. A kísérletek során nyert rugalmas erő-molekulahossz görbék nemlineáris görbealakot mutattak, melyre a féregszerű (wormlike chain, WLC) entropikus polimermodell egyenletét illesztettük. Az illesztés alapján kiszámítottuk a polimerláncot jellemző kontúrhosszt és a perzisztenciahosszt. A perzisztenciahossz az a távolság, melyen belül a polimerlánc termikus hajlítómozgásai korreláltak. Eredményeink szerint az ionerősség növelésével a látszólagos perzisztenciahossz csökkent. A perzisztenciahossz csökkenése a polyE motívum polielektrolit lánc viselkedése alapján értelmezhető. Ennek megfelelően alacsony ionerősség mellett az erősen töltött glutamát oldalláncok elektrosztatikus kölcsönhatása mintegy kimerévíti a láncot és nagy látszólagos perzisztenciahosszak mérhetőek. Az ionerősség növelésével elektrosztatikus árnyékolás miatt csökken az oldalláncok közötti kölcsönhatás, és emiatt a polyE motívum hajlékonyabbá válik. Az általunk megfigyelt ionerősség-függő mechanikai változásnak jelentősége lehet a titin rugalmasságának modulálásában.

DNS mimotóp peptid előállítása fúziós fehérje formájában

Szekeres Zsuzsanna
 V. évf. biológus
 ELTE TTK Immunológiai Tanszék
 témavezető: Dr. Prechl József

A szisztémás lupus erythematosus (SLE) autoimmun betegség egyik fő jellemzője olyan autoreaktív B-sejt klónok megjelenése, amelyek nukleáris antigénekre, köztük duplaszálú DNS-re (dsDNS) specifikus ellenanyagokat termelnek. Az SLE állatmodelljeként használt MRL/lpr egerekben kimutatható, hogy az anti-dsDNS ellenanyagok képesek glomeruláris antigénekhez kötődni, és az így kialakult immunkomplexek lerakódása következtében előidézi az SLE egyik jellemző tünetét, a glomerulonephritist.

Célunk egy olyan konstrukció létrehozása volt, amely a B sejt receptor (BCR) és a komplement receptorok (CR1/CR2) keresztkötése révén képes befolyásolni az autoreaktív B-sejt klónok aktivációját. Ennek érdekében a 7g6 elnevezésű eger CR1/CR2 specifikus rekombináns egyláncú molekulához a DWEYSVWLSN szekvenciájú decapeptidet kapcsoltuk, amelyet anti-dsDNS ellenanyag alkalmazásával szűrték peptidkönyvtárból. Bizonyított, hogy a decapeptid szintetikus formában DNS mimotópként viselkedik. A következőkben azt vizsgáltuk, hogy a peptid rekombináns formában is megőrzi-e mimotóp tulajdonságát.

A konstrukció létrehozásakor első lépésként a DNS mimotóp decapeptidet NcoI restrikciós enzim segítségével beillesztettük a 7g6 egyláncú ellenanyag szekvenciáját már tartalmazó pET-11d plazmidba. A 7g6-DWEYSVWLSN rekombináns fehérje jelenlétét DNS szinten restrikciós endonukleázokkal való emésztés és PCR technika segítségével igazoltuk. Ezt követően a rekombináns fehérjét bakteriális expressziós rendszerben állítottuk elő. A konstrukció fehérje szintű kimutatásához SDS-PAGE-t, Western blotot illetve tömegspektrometriát alkalmaztunk, míg funkcionális szempontból áramlási citofluoriméterrel illetve ELISA rendszerben, DNS ellenes ellenanyag segítségével vizsgáltuk.

Munkánk során sikerült előállítani a fúziós fehérjét. Vizsgálataink alapján elmondhatjuk, hogy a fúzió nem befolyásolta a 7g6 egyláncú ellenanyag funkcióját, illetve, hogy a DNS ellenes ellenanyagok képesek felismerni az egyláncú ellenanyaghoz kapcsolt decapeptidet.

MOLBIOL2-11

Tetramer egyláncú ellenanyag előállítás enzimatikus biotinilálás segítségével

Virág Viktor
V. évf. biológus
ELTE TTK Immunológiai Tanszék
témavezető: Dr. Prechl József

Ismert, hogy előállítható olyan ellenanyag fragmentum, amely az Ig molekula könnyű és nehéz láncának csak a variábilis részét tartalmazza egy flexibilis régióval összekapcsolva – ez az egyláncú ellenanyag fragmentum (scFv). Az scFv molekula egy antigén kötésére képes – valenciája többek között növelhető, hogy Streptavidint alkalmazva tetramerizáljuk. Ennek eléréséhez molekulánként egy biotint kell beépíteni, lehetőleg oly módon, hogy az scFv antigénkötő képességét ne befolyásolja. Erre alkalmas módszer az enzimatikus biotiniláció, amely szekvencia-specifikus biotin beépítést tesz lehetővé. Egy-egy biotin-kötő szekvenciát terveztünk az scFv N és C terminusára. A Bir A ligáz biotint köt a következő aminosav szekvencia lizinjéhez: GLNDIFEAQKIEWHE. Ezt az aminosav sorrendet fordítottuk cDNS szekvenciává. A prokariota kodonhasználat egy fontos kritériuma volt a tervezésnek. A 15 aminosav hosszú biotin-akceptor domén (BAD) scFv-hez kapcsolásához speciális expressziós rendszert állítottunk össze. Restriktions endonukleázzal való hasítás után a pET vektorba építettük a biotinkötő szekvenciát. Az scFv N és C terminusához a következő sorrendben ligáltuk az egyes doméneket: BAD scFv, vagy scFv BAD His-tag. A módosított vektor létrejöttét PCR technikával, szekvenálással és enzimatikus emésztéssel igazoltuk. Az *E. coli* az egyláncú ellenanyagot zárványtestekbe csomagolja és a citoplazmában felhalmozza, ezért azt a citoplazmatikus extraktumból Ni-NTA affinitás kromatográfiával nyertük ki. A fehérje tisztaságát és minőségét SDS-PAGE, Westen blot és ELISA segítségével ellenőriztük. Megbizonyosodtunk arról, hogy a baktériumok a rekombináns fehérjét ugyanolyan hatékonyan termelik mint az eredeti egyláncú ellenanyag fragmentumot. A tisztított scFv-t biotiniláltuk, majd tetramerizáltuk Streptavidint és az scFv-t 1:4 moláris arányban összekeverve. Így nyertük az úgynevezett Streptabody-t (Stab). A rekombináns ellenanyagaink különböző formáinak kötődését egér lépsejt szuszpenzió B limfocitákon végeztük. Vizsgálataink igazolták a CR1/CR2 receptorhoz való kötődést.

NEUANAT-1

A sztomatogasztrikus idegrendszer γ -aminovajsav-immunreaktív struktúráinak fejlődése és mintázata az *Eisenia fetida* (Annelida, Oligochaeta) embriogenezise során

Boros Ákos
III. évf. biológus
PTE TTK Általános Állattani és Neurobiológiai Tanszék
témavezető: Dr. Molnár László

Az oligochaeta gyűrűsférgék sztomatogasztrikus ganglionokból és a bélfonadékból álló ún. sztomatogasztrikus idegrendszere (SztIR) a perifériás idegrendszer bélcsatorna reflexeket (szekréció, izommozgás) irányító része. A SztIR anatómiája, hisztológiája, továbbá neurokémiai szerveződése és fiziológiai tulajdonságai viszonylag jól ismertek a kifejlett állatokban, de fejlődését még nem tárták fel. A SztIR-ben kifejlett állatokban jelentős mennyiségben előforduló neurotranszmitter a γ -aminovajsav (GABA), ezért a GABA szintetizáló struktúrák fejlődését tanulmányoztuk az *E. fetida* embriogenezise során hisztológiai és immunhisztokémiai módszerekkel.

Az embriogenezis korai szakaszában, azaz a központi idegrendszer telepének besüllyedésekor már GABA-immunreaktív (IR) neuronok (neuroblasztok) jelennek meg annak állományában, illetve szabálytalan mintázatot mutató primer érzékhámsejtek az ektodermában. A központi idegrendszer ganglionjainak differenciálódását követi a sztomatogasztrikus ganglionok és a bélcsatorna fejlődése. A sztomatogasztrikus ganglionok fejlődése a garatideggyűrű differenciálódásával és az előbél betüremkedésével párhuzamosan halad. A bélfonadék fejlődése is az előbél betüremkedésével indul meg: az ún. szubepitéliális plexusban kezdetben a sztomatogasztrikus ganglionok neuronjainak és az epitél primer érzékhámsejtjeinek nyúlványai futnak. Később a plexus bonyolultabb szerkezetűvé válik, mert formálásában részt vesznek a bélcsatorna izomrétegében megjelenő, változatos morfológiájú (uni-, és bipoláris, néha multipoláris) neuronok nyúlványai is. Utóbbi struktúrák nagy számban fordulnak elő a garatban, különösen annak dorzális falában, míg a bélcsatorna többi részében mennyiségük rostrókaudális irányban fokozatosan csökken. A garat izomrétegében a GABA-IR neuronok száma az izomzat fejlődésével arányosan, a kokonból történő kikelésig nő.

Megállapíthatjuk hogy a SztIR és a bélcsatorna differenciálódása között szoros korreláció mutatható ki. Az embrionális fejlődés végére kialakulnak azok az idegi kapcsolatok, amelyek az egyedek önálló táplálkozását biztosítják.

NEUANAT-2

A patkány mediális septum neuronhálózatának neurokémiai jellemzése: külső és belső eredetű nitrerg elemek

Janzsó Gergely
 V.évf. biológus
 ELTE TTK, SZIE ÁOTK Anatómiai és Szövetani Tanszék
 Témavezető: Dr. Halasy Katalin

A neuronális nitrogén-monoxid (NO) jelenlétét vizsgáltuk patkány mediális septum – Broca-féle diagonális köteg (MS/DB) komplexumában a molekulát előállító nitrogén-monoxid szintáz (nNOS) fény- és elektronmikroszkópos immunhisztokémiai kimutatásával, valamint NADPH-diaforáz hisztokémiával. Célul tűztük ki, hogy morfológiai jellegek alapján leírjuk a nNOS/NADPH-d pozitivitást mutató sejteket, továbbá ismertessük az immunreaktív axonterminálisok posztszinaptikus célelemeit, és azok megoszlását. Az MS/DB területén mindkét módszerrel nagyszámú jelölt neuront sikerült azonosítani. Ezek fénymikroszkópos morfológiai jellemzői megegyeznek a ChAT-immunreaktív sejtek főbb vonásaival. Elektronmikroszkópos finomszerkezeti jellegzetességeik alapján is ezek a kolinerg sejtek csoportjába sorolhatók. Eredményeink a vizsgált szinapszisok típusa és a posztszinaptikus nNOS pozitívítás tekintetében a következők: 43% nNOS(-), 15% nNOS(+) aszimmetrikus szinapszis dendrittrözsön; 21% nNOS(-), 4% nNOS(+) szimmetrikus szinapszis dendrittrözsön; 13% nNOS(-), 2% nNOS(+) aszimmetrikus szinapszis dendrittüskén. Összességében a posztszinaptikus célprofilok között 83%-ban dendriteket és 15%-ban dendrittüskéket találtunk. A célprofilok 77%-a bizonyult nNOS-negatívnak, és 23%-a nNOS-pozitívnak. A posztszinaptikus célelemek között nem találtunk szómát és axont, illetve a pozitívítást mutató sejtestek körül sem találtunk szinapszisokat. Ez utóbbi eredmények összhangban vannak a korábbi kutatásokkal, melyek szerint az MS/DB területén NADPH-d pozitívítást mutató sejtek jóformán mindegyike cholinerg, és ezek sejtestjein és szómáin ritkán lehet szinapszisokat megfigyelni. Az nNOS-immunpozitív szinapszisok közel egynegyede (26%) szimmetrikus típusba volt sorolható. Annak bizonyítására, hogy ezek valóban GABAerg gátló szinapszisok, posztembedding immunogold reakciót végeztünk. Mivel a nNOS-immunpozitív sejtek az MS/DB területén nem GABAerg, ezek valószínűleg külső eredetűek.

NEUANAT-3

A gonadotrop releasing hormon (GnRH) neuronok szomatostatin receptor expressziójának és szomatostatinerg beidegzésének vizsgálata transzgenikus egerekben

Kaszás Attila
 IV. biológus
 ELTE TTK, MTA Támogatott Kutatóhelyek Irodája
 témavezetők: Dr. Ábrahám István, Barabás Klaudia, Dr. Juhász Gábor

A szomatostatin (SST) a hipotalamo-hipofízis rendszer jelentős modulátora. A növekedési hormont termelő neuronok szomatostatinerg szabályozását jól ismerjük, azonban más fenotípusú neuroszekréciós sejtek esetében erről keveset tudunk. Jelen kísérleteinkben a hipotalamusz-hipofízis-gonád tengely szabályozásában kulcsszerepet játszó principális sejtek, a GnRH neuronok SST receptor (SSTR) expresszióját és SST-erg beidegzését vizsgáltuk hím és nőstény egerekben. Első kísérletünkben heterozigóta SSTR2 knockout / LacZ knockin transzgenikus egerekben határoztuk meg az SSTR2 kifejeződését GnRH neuronokban. Ezekben a transzgenikus állatokban az SSTR2 expresszió mértéke egy egyszerű X-gal hisztokémiával vizsgálható. További kísérleteinkben megvizsgáltuk a GnRH neuronok SST-erg beidegzését hím és nőstény transzgenikus egereken. A homozigóta GFP-GnRH transzgenikus egerek GnRH neuronjai 488 nm hullámhosszúságú fényvel megvilágítva zöld színnel fluoreszkálnak és fluoreszcens immunhisztokémia felhasználásával a GnRH neuronokon lévő SST-erg appozíciók jelenléte könnyen vizsgálható. Az analízist konfokális pásztázó lézer mikroszkóp (CLSM) segítségével végeztük, három dimenziós rekonstrukciót követően. Az első kísérlet mennyiségi elemzése megmutatták, hogy nőstény egerekben a GnRH neuronok 12%-a, míg hímeinkben 3%-a expresszál SSTR2-t. A konfokális mikroszkóppal végzett elemzések szomatostatinerg appozíciókat találtunk a GnRH-neuronok szómáján és nyúlványain, hímeink és nőstények esetén egyaránt, ám az appozíciók száma nem mutatott nemi eltérést. Kísérleteink az első bizonyítékot szolgáltatják arra nézve, hogy SST-erg appozíciók találhatóak a GnRH neuronokon, és hogy bennük SSTR2 fejeződik ki, amelynek mennyisége szexuális dimorfizmust mutat, és e szerint fennáll a lehetőség, hogy a szomatostatin részt vesz a hipotalamusz-hipofízis-gonád tengely idegi modulációjában.

NEUANAT-4

A szeptohippokampális pálya azonosított axonjainak célelem szelektivitásának vizsgálata

Makó Attila
V.évf. biológus
ELTE TTK, MTA KOKI Celluláris- és Hálózat-Neurobiológiai Osztály
Témavezető: Dr. Gulyás Attila

A medialis szeptum PV-tartalmú GABAerg sejtjei fontos szerepet játszanak a hippokampális theta oszcillációk és kognitív funkciók szabályozásában. In vivo kísérletekben kimutatták, hogy a szeptohippokampális PV-tartalmú neuronok heterogénnek tekinthetők a hippokampális theta állapotok alatt mutatott tüzelési sajátságai alapján. Továbbá az is bizonyítást nyert, hogy a hippokampusz anatómiailag különböző interneuronjai a lokális theta aktivitás különböző fázisaiban tüzelnek.

A fentebb vázolt eredményekből arra következtethetünk, hogy a szeptohippokampális sejtek funkcionálisan különböző interneuron populációkat érnek el, attól függően, hogy a theta mely fázisában tüzelnek. Kutatásainkban azt vizsgáltuk tehát, hogy a szeptohippokampális axonok célsejt szelektív-e a funkcionálisan különböző hippokampális interneuronokon.

A feltevés bizonyítása érdekében kutatásainkban egy anterográd jelölőanyagot (PHAL) injektáltunk a medialis szeptumba, és kettős immuncitokémiai festési módszerekkel láthatóvá tettük a hippokampuszba vetítő rostokat, valamint a rostok célsejtjeit (a hippokampusz funkcionálisan különböző interneuronjait, mint pl. a PV-tartalmú kosár-, vagy a SOM tartalmú OLM-sejteket). Az egyedi szeptohippokampális axonokat 60 mikrométer vastagságú sorozatmetszeteken keresztül követtük át, és rajzoltuk ki Camera Lucida segítségével. Vizsgálatainkban eddig a gyrus dentatus hilus területét térképeztük fel, de folyamatban van a hippokampusz CA1 oriens, és CA3 oriens régiójának vizsgálata is. Azért ezeken az ammon-szarvi területeken vizsgáltuk a szeptohippokampális GABAerg rostok célsejt szelektivitását, mert ezek a területek tartalmazzák egyszerre a SOM-, és PV-pozitív gátlósejteket is.

A hiláris régió elemzése alapján azt találtuk, hogy a szeptohippokampális rostok egy része célsejt szelektivitást mutat a PV-, vagy SOM-tartalmú interneuronokon, míg a rostok másik része mindkét sejtcsoportot innerválja a hippokampuszban. Ezenkívül terminációs típus alapján az axonoknak két csoportja volt megkülönböztethető (egyik kosár, míg a másik ún. „en-passant” termináció), melyek között voltak célsejt szelektív, és nem szelektív is. Elsődleges eredményeinkből arra következtethetünk tehát, hogy a szeptohippokampális axonok célsejt szelektivitásukra, és arborizációs mintázatukra nézve is heterogének, ami alátámasztja a fiziológiai mérések eredményeit is.

NEUANAT-5

A vestibularis receptorok szomatotópiás lokalizációja béka kisagyban

Rácz Éva
V. évf. biológus
DE TTK, DE OEC Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet
témavezető: Dr. Matesz Klára, Dr. Bácskai Tímea

Előzetes fiziológiai és morfológiai kutatási eredmények azt mutatják, hogy a béka primer afferens rostjai kémiai és elektromos synapsisokon keresztül létesítenek kapcsolatot sekunder neuronjaikkal. A dye-coupled kapcsolat az elektromos synapsisoknak felel meg. A primer vestibularis afferens rostokat neurobiotinnal jelöltük, melynek eredményeként nagy számú úgynevezett dye-coupled neuront detektálhattunk a rostok végződési területein. Ezen tanulmányban arra kerestük a választ, hogy az egyes vestibularis receptorok dye-coupled szemcsesejtjei mutatnak-e somatotopicus lokalizációt a kisagy területén.

Kísérleteinket *Rana esculenta*-n végeztük. Az állatok altatását követően felnyitottuk a capsula oticumot és ventrális megközelítésből kireparáltuk a VIII. agyideg perifériás ágait. A vizsgálni kívánt idegágat átvágtuk, majd az idegcsomokra neurobiotin kristályokat helyeztünk. Három – négy napos túlélési időt követően a békákat ismét elaltattuk és transcardialisan perfundáltuk fixálószerrel (0.1M foszfát pufferben (PB) oldott 1.25% glutáraldehid és 2% paraformaldehid). Ezután az agytörzset a kisaggal és a gerincvelő egy részével együtt eltávolítottuk. 60µm vastagságú metszeteket készítettünk, melyeket ABC reagenssel és DAB-nikkel oldatban inkubáltuk. A dye-coupled szemcsesejtek pozícióját NeuroLucida segítségével rekonstruáltuk.

A vestibularis ideg dye-coupled szemcsesejtjei elsősorban a kisagy ipsilateralis auricularis lebenyében (ekvivalens az emlősök vestibulocerebellumával), kisebb számban pedig a corpus cerebelliben jelentek meg. A szemcsesejtek NeuroLucidával történő rekonstrukciója szignifikáns átfedést mutatott az egyes receptorok kiterjedési területei között. Az anterior félkörös ívjárat és a sacculus esetében a dye-coupled szemcsesejtek száma 287 és 333 között változott, míg a posterior félkörös ívjárat afferens rostja 42–73 dye-coupled szemcsesejttel állt kapcsolatban.

Az egyes vestibularis receptorok dye-coupled szemcsesejtjeinek somatotopicus organizációja megerősíti azon előzetes kutatások eredményeit, melyek azt mutatták, hogy figyelemreméltó átfedés van a vestibularis receptorok végződési területei között a vestibularis magkomplex területén.

NEUANAT-6

A perforáns pálya és a CA1 piramis sejtek kapcsolatának fény-, és elektronmikroszkópos vizsgálata

Takács Virág

V. évfolyam, biológus

ELTE TTK, MTA Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet

témavezető: Dr. Gulyás Attila

A memórianyomok rögzítésében és a térbeli tájékozódásban alapvető jelentőségű a hippocampus és a neocortex közvetett reciprok kapcsolata, amely az entorhinalis kérgen (EC) keresztül valósul meg. Ennek az összeköttetésnek az egyik komponense az EC-ből a hippocampusba tartó perforáns pálya, amely két részből áll: Az ún. klasszikus perforáns pálya a gyrus dentatusba és a CA3-ba vetül, míg a temporo-ammonic pálya (TAP) a subiculum mellett a CA1 régiót innerválja. A CA1 piramis sejtek szinaptikus bemeneteinek vizsgálata arra az eredményre vezetett, hogy a gátló és serkentő bemenetek szerveződése eltérő a str. radiatumban és oriensben (SRO) a TAP elvégződési területétől, a str. lacunosum-moleculare-től (SLM). A SLM-ban a serkentő szinapszisok nagyobbak, gyakrabban perforáltak, és sokszor dendritikus shafton helyezkednek elő, amely nem fordulhat elő a SRO-ban, ahol kizárólag tüskéken találhatóak. E mellett a SLM-ban a dendritek sokszor horizontális irányban, a TAP rostjaival párhuzamosan helyezkednek el, szemben a SRO-el, ahol a Schaffer kollaterálisokra merőlegesek. Mindezek alapján arra következtettünk, hogy a topografikusan érkező TAP rostok rákúszva a CA1 piramis sejtek horizontális dendritjeire többszörös kapcsolatokat létesíthetnek velük.

Ennek megvizsgálása céljából anterograd nyomkövető anyaggal, biotinilált dextrán aminnal (BDA) mikro beadásokat végeztünk patkányok entorhinalis kérgében és hippocampusuk CA1 régiójában, így egyszerre megjelöltünk perforáns pálya axonokat és CA1 piramis sejteket. A piramis sejtek dendritfáját sorozatmetszetekből rekonstruáltuk camera lucida segítségével, majd megkerestük lehetséges kapcsolataikat a jelölt TAP rostokkal. Ezek közül többet elektronmikroszkópban is azonosítottunk. Elemeztük emellett az átrajzolt axonok 3-dimenziós elágazási mintázatát is.

Megállapítottuk, hogy feltevésünkkel szemben a TAP rostok egyszeres, en passant kapcsolatokat létesítenek a CA1 piramis sejtekkel, és a SLM-ben futva csak igen ritkán ágaznak el, kivéve elvégződési területüket, ahol némileg sűrűbb arborizáció jellemző rájuk. Kísérleteink megerősítették a TAP topografikus szerveződéséről és a klasszikus perforáns pálya diffúz jellegéről szóló korábbi tanulmányokat. A TAP kisebb mértékű divergenciája arra utalhat, hogy az egyszeres kapcsolatok ellenére a klasszikus perforáns pályánál szelektívebben közvetíti az információt az egyes hippocampalis sejtek felé.

NEUANAT-7

Adhéziós receptorok kölcsönhatása NE-4C neurális őssejtekben

Vágovits Balázs

IV. évf. biológus

ELTE TTK, MTA KOKI Idegi Sejtbiológia Laboratórium

témavezetők: Markó Károly, Dr. Madarász Emília

A központi idegrendszer embrionális fejlődése során számos sejt vándorlással járó morfogenetikus folyamat figyelhető meg. Ezen folyamatokban nyilvánvaló szerepet játszanak a sejt-sejt, illetve sejt-extracelluláris mátrix közötti specifikus adhéziós kapcsolatok. Munkámban, egy embrionális, idegi eredetű őssejtvonalat felhasználva arra szeretném rámutatni, hogy a különböző sejt felszíni adhéziós molekulák képesek lehetnek egymás funkcióját közvetlenül szabályozni, így dinamikus adhézió mintázatot létrehozni, illetve befolyásolni az idegi őssejtek proliferációs és differenciációs állapotát.

Kísérleteink során a kilenc napos egérembrió elülső agyhólyagjaiból izolált NE-4C neuroektodermális őssejtvonalat használtuk. Megfigyeltük, hogy az $\alpha_v\beta_3$ integrin-receptorok specifikus liganduma, egy ciklikus RGD pentapeptid, a α (RGDfV) hatására a sejtek nagyméretű aggregátumokat hoznak létre. Hasonló jelenséget az általános inetrin-ligandum peptidok (RGD, vagy RGDS) nem idéztek elő. Western blot és immuncitokémiai módszerek segítségével megállapítottuk, hogy a megnövekedett mértékű aggregáció során az E-cadherin molekulák sejtmembránba helyeződnek át. Konfokális mikroszkópiával megmutattuk továbbá, hogy az E-cadherin áthelyeződése együtt jár egy fontos sejt sorsot befolyásoló transzaktivátor, a β -catenin sejten belüli eloszlásával. A β -catenin a kezeletlen tenyészetekben főként a sejt magokba lokalizálódott, míg az aggregált sejtekben a sejtmembránhoz kötődött. ^3H -timidin-inkorporáció mérésével és közvetlen sejt számolás segítségével is megmutattuk, hogy az $\alpha_v\beta_3$ integrin-stimuláció által kiváltott aggregálódás, csökkenti a sejtek proliferációját. A sejt osztódás mértékének csökkenésében feltehetően a β -catenin sejt magból történő transzlokációja fontos szerepet játszik. Adataink alapján az NE-4C sejtek korai idegi elköteleződéséhez nélkülözhetetlen sejt aggregációval párhuzamosan megváltozik a cadherin és β -catenin sejten belüli eloszlása, a folyamatsor az $\alpha_v\beta_3$ integrin típusú integrinek szelektív stimulációjával kiváltható.

NEUANAT-8

Ösztrogén receptor immunreaktív neuronok az egér suprachiasmatikus nucleusában

Vida Barbara

V. évf. biológus

ELTE TTK Élettani és Neurobiológiai Tanszék

témavezető: Dr. Kalló Imre

BEVEZETÉS: Az emlősök napi ritmusának elsődleges szabályozója a suprachiasmatikus mag (SCN), melynek két, struktúrálisan és funkcionálisan is eltérő része a "core" és az ezt körülvevő "shell". Egérben e régiók afferens és efferens kapcsolatai jól ismertek, valamint az is, hogy idegsejtjei milyen neurotranszmittert ill. kalcium kötő fehérjét tartalmaznak. Irodalmi adatok szerint a napi ritmusban nemek közti különbség van. Az ösztrogén receptor (ER) a nukleáris receptorok egyik ágát képezi és transzkripciós faktorként számos gén expresszióját képes befolyásolni, két ismert altípusa az ER- α és az ER- β . Korábban már kimutattak ER- β immunreaktivitást (IR) az egér suprachiasmatikus nukleusában, ER- α pozitív sejteket azonban itt még nem detektáltak.

MÓDSZER: Kísérletünkben immuncitokémia módszerrel mutattunk ki ER- α és ER- β pozitív sejteket és arra kerestünk választ, hogy mutatnak-e szexuális dimorfizmust egér SCN-ban, valamint arra, hogy az ösztrogén befolyásolja-e az ER-ok expresszióját. Az állatok ivarmirigyzeit eltávolítottuk, a kezelt csoportnál olajban oldott 10 μ g ösztadiol-benzoátot injektáltuk subcutan, a kontroll csoport olajat kapott.

EREDMÉNYEK: ER-immunreaktív neuronok erős ivari dimorfizmust mutattak, mindkét altípus magasabb számban volt jelen a nőstényekben (kb. 1,5-szeres túlsúlyban) és mindkét nemnél magasabb számú (kb. 7-szer annyi) ER- β -IR sejtet mutattunk ki. Az ösztadiol-benzoáttal való kezelés után szignifikánsan lecsökkent az ER- β pozitív sejtek száma, ami arra utal, hogy az ösztrogén vagy fokozza a receptor proteolízisét vagy csökkenti a képződését. Orchidektómia nem befolyásolta szignifikánsan egyik receptor altípust termelő sejtek számát sem. A különböző ösztrogén receptor altípusokat expresszáló sejtek fenotípusát kettős jelöléses immuncitokémiával határoztuk meg: ER- α -t calretininnel, míg ER- β -t calbindinnel és kisebb mértékben vazopresszinnel kolokalizáltunk. Azt, hogy az SCN-ben az ösztrogén befolyásolja-e a calbindint, calretinint, vazopresszint, valamint a vasoaktív intestinalis polipeptidet (VIP) kódoló gén transzkripcióját, in situ hibridizációval kívánjuk vizsgálni.

NEUANAT-9

Retinsav szerepe az asztroglia-által indukált idegsejt-képződésben: vizsgálatok immortalizált idegi őssejtek és asztroglia sejtek ko-kultúráiban

Vörös Erzsébet

III. évf. biológus

ELTE TTK, MTA KOKI Idegi Sejtbiológia Laboratórium

témavezető: Dr. Környei Zsuzsanna, Dr. Madarász Emília

Mind a fejlődő, mind az érett központi idegrendszerben az asztroglia sejtek fontos komponensei az elkötelezetten idegi őssejtek mikrokozmoszának (1). Sok adat bizonyítja közvetlen szerepüket a neuronális differenciációs folyamatok szabályozásában (2,3,4). Vizsgálataink során újszülött patkánygyóból nyert primer asztroglia sejtek és idegi őssejtek ko-kultúráit hoztuk létre, melyek alkalmasak a két sejt-típus közvetlen kapcsolatának modellezésére (5). Neurális őssejtként - azaz több eltérő sejt-típus kialakítására képes, önmegújító neuroektodermális sejt-ként - az NE-4C immortalizált, embrionális eredetű idegi sejt-vonalat használtuk (6). Az asztroglia sejtek hatására, más indukáló faktorok hozzáadása nélkül az idegi őssejtek jelentős mértékű neuronális differenciációját figyelhettük meg. Az idegi őssejtek neuronális differenciációja - asztroglia jelenléte nélkül - retinsavval beindítható, ezért felvetődött, hogy a glia által indukált neurogenézist okozhatja az asztroglia endogén retinsav termelése.

A sejtek retinsav (RA) produkcióját egy RA szenzitív promóter által vezérelt, LacZ riportert-gént hordozó embrionális karcinóma sejt-vonal (F9) segítségével vizsgáltuk (7). Az endogén retinoid termelődését a ko-kultúrákban retinaldehid-dehidrogenáz gátló anyag (diszulfiram) hozzáadásával akadályoztuk meg. Diszulfiram hatására a keletkezett neuronok száma ~60 %-kal csökkent. A retinsav retinsav receptorhoz (RAR) való bekötődését egy pan-RAR antagonistával blokkoltuk. A pan-RAR antagonistá 70 %-os neuronszám csökkenést okozott.

Eddigi eredményeink azt mutatják, hogy a RAR receptoron keresztül történő szignalizációnak szerepe van az NE-4C idegi törzssejtek asztroglia által indukált neuronális differenciációjában. Feltételezzük, hogy a tenyésztett asztroglia sejtek - vagy maguk az asztroglia sejtek által aktivált neuroektodermális őssejtek - aktív retinsav szintézisre képesek.

1. Alvarez-Buylla 2004. *Neuron* 41, 683-686. 2. Toresson 1999 *Development*. 3. Song, 2002. *Nature* 417, 39-44. 4. Lim 1999 *PNAS* 96, 7526-7531. 5. Környei 2004 *Glia* 6. Schlett 1997 *J Neurosci Res* 47, 405-415. 7. Sonneveld 1999 *Exp Cell Res* 250, 284-297.

NEUBIOL-1

Az MDMA ('Ecstasy') rövid és hosszú távú hatásai a napszaki ritmusra és az alvásra

Benkő Anita, Molnár Eszter
IV., III. évf. pszichológia
KRE BTK, OPNI Neurokémiai és Neuropszichofarmakológiai Laboratórium
témavezető: Dr. Kántor Sándor, Dr. Bagdy György

Az MDMA, az Ecstasy nevű, rekreációs céllal fogyasztott drog hatóanyaga. Használata egyre korábbi életkorra tolódik, s Európában a második leggyakrabban fogyasztott illegális drog. Az MDMA hatását főképp a szerotonerg rendszeren fejti ki, károsítva a raphe dorsalis axonjait, főképp azokat, melyek a prefrontális kéregbe, striatumba és hippocampusba projektálódnak. Így, az MDMA számos olyan viselkedéses változást okozhat, mely szerotonerg szabályozás alatt áll, mint a cirkadián ritmus, alvás, motoros aktivitás. Bár bizonyos neurokémiai hatásait ismerjük, számos egyéb akut és hosszú távú hatása máig nincs feltérképezve.

Vizsgálatunkban egyszeri MDMA kezelés - mely megfelel az emberek által fogyasztott egyszeri, átlagos dózisnak - lehetséges hatását tanulmányoztuk a napszaki ritmusra, a vigilanciára és a motoros aktivitásra, 28 napon keresztül vizsgálva. 15 mg/kg MDMA-t intraperitoneálisan adtunk hím Dark Agouti patkányoknak, és 28 napon át követtük a motoros aktivitást, az ébrenléteket, a felszínes alvást, a mélyalvást és a paradox alvást, 23 órás folyamatos elektroencefalográfiás (EEG) felvételeken, valamint az alvást latenciát és a paradox alvást latenciát is mértük. Emellett tanulmányoztuk az akut hatásokat olyan állatokon, amelyek 3 héttel korábban egy alkalommal MDMA-val lettek kezelve. A 23 órás ciklusok napszaki mutatóit cosinor analízissel elemeztük.

Eredményeinkből kiderült, hogy az MDMA, a kezelést követően, 5-6 órán át jelentősen megnövelte az állatok motoros aktivitását és fokozta az ébrenléteket. A motoros aktivitás- és az alvás-ébrenléti fázisok cirkadián ritmusa a felvételt követő első 5 napon jelentős mértékben különbözött a kontroll állatokétól. Bár a 14. napon a legtöbb paraméter helyreállt, a motoros aktivitásra, ébrenlétre, mélyalvásban töltött időre és paradox alvást latenciára még a 28. napon is mérhető hatása volt az MDMA kezelésnek. A három héttel korábban már kezelt állatokon a legtöbb akut hatás hasonló volt ahhoz, mint amit a nem előkezelt állatokon tapasztaltunk, de a motoros aktivitás- és alvás-ébrenléti hatások hamarabb lecsengtek.

Vizsgálataink bizonyítják, hogy egy dózis MDMA tartós változásokat okoz a motoros aktivitás, a cirkadián ritmus és az alvás-ébrenléti szabályozásában, s ez a humán Ecstasy-fogyasztás közvetlen veszélyeire hívja fel a figyelmet.

NEUBIOL-2

Tyr-Tic-(2S,3R) β MePhe-Phe-OH, egy új delta opioid antagonistista kötődésének receptorális, funkcionális és morfológiai vizsgálata

Birkás Erika
V.évf. biológus
SZTE TTK, MTA Szegedi Biológiai Központ Biokémiai Intézet
témavezető: Dr. Szűcs Mária

Az opioid ligandok μ , δ és κ opioid receptorokon keresztül fejtik ki hatásukat. Munkánk célja az ismert δ opioid antagonistista TIPP (Tyr-Tic-Phe-Phe-OH) egy új származékának, a Tyr-Tic-(2S,3R) β MePhe-Phe-OH-nak receptorális és funkcionális karakterizálása volt, amit azzal a céllal állítottak elő, hogy az eredeti peptidnél nagyobb affinitású és/vagy specifikus, stabilabb ligandot nyerjenek. Összehasonlító elemzést végeztünk patkány, vad típusú és δ receptor knock-out (DOR-KO) egér agyban a δ opioid receptor hipotetikus heterogenitásának tanulmányozása céljából. Ligand-stimulált [³⁵S]GTP γ S mérésekkel megállapítottuk, hogy a vizsgált ligand δ -specifikus antagonistista. [³H]Tyr-Tic-(2S,3R) β MePhe-Phe-OH-val (specifikus aktivitás 53,7 Ci/mmol) telítési kísérleteket végeztünk a kötési paraméterek megállapítása céljából. Patkány agyban a disszociációs állandó, K_d értéke $0,28 \pm 0,001$ nM, a kötőhelyek száma (B_{max}) $155 \pm 6,6$ fmol x mg protein⁻¹. Vad típusú egér agyban a K_d = $0,148 \pm 0,013$ nM, a B_{max} = $80,8 \pm 7,9$ fmol x mg protein⁻¹, vagyis az itt lévő kötőhelyek nagyobb affinitásúak, de kisebb denzitásúak, mint patkány agyban. Na⁺ jelenlétében csökkent a kötődés affinitása, ami bizonyítja a ligand antagonistista jellegét. DOR-KO agyban nem észleltünk specifikus kötődést, így az eredmények egyértelműen igazolták, hogy a vizsgált ligand δ -specifikus. A [³H]Tyr-Tic-(2S,3R) β MePhe-Phe-OH kötőhelyek lokalizációját receptor autoradiográfiás kísérletekkel tanulmányoztuk. Vad típusú egér agyban az egyes agyterületek eltérő denzitásban jelölődtek, legerősebb jelölődést a caudate putamen, a cortex és a szaglógumó bizonyos területei mutattak, ami megfelel a δ -receptor ismert regionális megoszlásának. DOR-KO agy esetén nem kaptunk jelölődést. A [³H]Tyr-Tic-(2S,3R) β MePhe-Phe-OH-kötőhelyeket tovább jellemeztük leszorítási kísérletekkel. μ - és κ -specifikus ligandok csak igen nagy koncentrációban hatottak, míg az ismert δ -antagonista naltrindol nanomólos koncentrációban is hatékony volt. A jelöletlen Tyr-Tic-(2S,3R) β MePhe-Phe-OH potens volt mind patkány, mind egér agyban, de az utóbbiban a naltrindollal mért nonspecifikus kötés értéke alá szorította le a radioligand kötését. Ez felveti annak a lehetőségét, hogy a patkány és az egér agyban a δ opioid receptorok eltérő altípusa található meg, vagy az egér agyban a vizsgált ligand nem opioid receptorokhoz is kötődik. A jelenséget DOR-KO és rekombináns receptorokat expresszáló sejtekkel végzendő kísérletekkel tervezzük további vizsgálni.

NEUBIOL-3

Az NMDA receptorok alegység-összetételének hatása kisagy szemcsesejtek in vitro migrációjára

Czöndör Katalin
V. évf. biológus
ELTE TTK Élettani és Neurobiológiai Tanszék
témavezető: Schlett Katalin

Az NMDA receptorok (NR) a központi idegrendszer serkentő hatású glutamát jelátvitelében játszanak szerteágazó szerepet. Az NMDA receptor-komplex felépítésében az elengedhetetlen NR1 alegység mellett 4 féle NR2 alegység vehet részt (NR2A-D). Az alegység-összetétel az egyedfejlődés során meghatározott idő- és térbeli mintázat szerint változik, és az eltérő alegység-összetétel eltérő farmakológiai sajátosságokhoz vezet.

A kisagy kialakulása során jellegzetes alegységcsere megy végbe, ezért a kisagy alkalmas modellrendszer az egyes NR2 alegységek speciális szerepének vizsgálatára. A kisagy szemcsesejtek vándorlása alatt az NR1 mellett főleg az NR2B alegység fordul elő. A sejt vándorlás befejeztével az NR2B eltűnik, ezzel párhuzamosan megkezdődik az NR2C alegység expressziója, amely felnőt korban is megmarad. Ez arra utal, hogy az NR2B-t tartalmazó ioncsatornáknak – feltehetően a hosszabb nyitvatartási idő és nagyobb Ca^{2+} -konduktancia miatt – a szemcsesejt vándorlás irányításában van szerepük.

Ezt a feltevést egy olyan transzgenikus egértörzs segítségével vizsgáltam, amelyben az NR2C helyett az NR2B alegység termelődik (NR2C/2B egértörzs). Videómikroszkópos felvételek és Ca^{2+} -image technika segítségével, transzgen és vad típusú szemcsesejtek sejttenyésztésében elemeztem, hogy a receptor-összetétel megváltoztatása az NMDA receptorok működését és a migrációs aktivitást hogyan befolyásolja.

Immunitokémiai festésekkel bizonyítottam, hogy az általam alkalmazott tenyésztési körülmények mellett a vad típusú és a transzgen tenyészetekben a szemcsesejtek aránya egyformán ~95%. A transzgen receptor-komplexekben az NR2B alegység fokozott jelenlétét glutamát-toxicitási mérésekkel és az intracelluláris Ca^{2+} szint változások mérésével, NR2B specifikus antagonisták alkalmazásával sikerült kimutatnom. Videómikroszkópos elemzéseim alapján a nyúlványok mozgási mintázata és sebessége a kétféle tenyészetben nem különbözött, a szemcsesejtek vándorlási sebessége azonban a transzgen tenyészetekben nagyobb volt.

Annak bizonyítására, hogy a gyorsabb vándorlási sebességért az NR2B alegység felelős, folyamatban lévő kísérleteimben az NR2B specifikus antagonisták sejt vándorlási sebességre gyakorolt hatását vizsgálom.

NEUBIOL-4

Receptorális bioszenzorok a neuroendokrin rendszerben

Himer András¹, Karamán Attila², Nagyéri György³
IV. évf. biológia – környezetvédelem¹, V. évf. orvos², V. évf. biológus³
¹SZTE JGYTF Kar Biológia Tanszék, ²SZTE ÁOK Endokrinológiai Osztály, ³SZTE TTK Összehasonlító Élettani Tanszék
témavezetők: Dr. Gálfi Márta, Dr. Valkusz Zsuzsanna, Dr. László Ferenc

Az emlősöknél a homeosztázis fenntartása - pl. a viselkedési mintázatok, a fiziológiai folyamatok, valamint az összes ingerre kiváltott neuronális válasz - a központi idegrendszeri pályák által regulált. Érintettek ebben a szabályozásban a dopaminerg (DA), szerotoninerg (5-HT), hisztaminerg (HA) rendszerek, melyek kooperációt tartanak fenn az endokrin rendszer peptid hormonjai (pl. 8-arginin-vazopresszin /AVP/, oxytocin /OT/, galanin /GAL/) által regulált folyamatokkal, s ezzel a neuroendokrinium egységes rendszerét képviselik a központi idegrendszerben (pl. a hypothalamus szintjén).

Jelen vizsgálatainkkal célunk az volt, hogy a hypophysis szabályozási szintjéhez kapcsolatosan is tanulmányozzuk a KIR egységes neuroendokrin rendszerére jellemző monoamin- és peptiderg receptorok jelenlétét, valamint azok homeosztázis fenntartására irányuló szerepét. Eredményeink értelmében vizsgálni kívántuk még, hogy e rendszerek alkalmasak-e a környezeti hatások bioszenzoraként?

Kísérleti modellként Wistar (200 g, ♂) patkányok sterilis kivett neurohypophysiséből készült monolayer sejttenyésztéseket alkalmaztunk. A sejt kultúrákat Costar tenyésztő edényekben, supplementált (Foetal Calf Serum /FCS/ 10% + 10 IU/ml streptomycin és penicillin) Dulbecco Modified Eagle Medium /DMEM/-ban, viabilitás és funkcionális standardizálás ellenőrzése mellett (pCO₂: 5%; T = 37°C) termesztettük. A kísérletek során a receptor agonistákat (DA, 5-HT, HA, GAL) és antagonistákat (sulpiridin, ketanserin, cimetidin, galantid) dóziszfüggés ellenőrzését követően 10⁻⁶ M koncentrációban alkalmaztuk. A fenti ágensek hatásának idő-kinetikai vizsgálatai alapján határoztuk meg az agonisták 30 perces kezelési időtartamát, valamint a kombinált kezeléseknél az antagonisták esetén- az agonista hozzáadását megelőző-, harminc perces hatás időtartamot. A kezeléseket követően a felülúszó médiumok AVP tartalmát RIA-val, a tenyészetek fehérje tartalmát Lowry módosított módszerével határoztuk meg. A receptor funkciók homeosztátikus szerepét, az *in vivo* klórbenzollal kezelt patkányok neurohypophysis kultúráin végzett hasonló vizsgálatokkal ellenőriztük.

Eredményeink szerint a neuroendokrin rendszer komplex formában van jelen a neurohypophysis szintjén, melyet a DA, 5-HT, HA, GAL receptorok jelenléte igazolt. A hypophysis regulációs szintjén komplex neuroendokrin válaszméchanizmusok generálódnak, amit a klórbenzol kezelések eredményei látszanak alátámasztani. Kísérleteinkben vizsgált receptorokhoz kötött mechanizmusokkal igazoltuk azok bioszenzoroként való alkalmasságát.

NEUBIOL-5

Hisztamin szerepének vizsgálata az anyagcsere hipotalamikus szabályozásában

Jelencsics Kira
 V.évf. biológus
 ELTE TTK, MTA KOKI Molekuláris Neuroendokrinológiai Laboratórium
 témavezető: Dr. Kovács Krisztina, Földes Anna

A hisztamin fontos szabályzó szerepet játszik a homeosztatikus működések szabályozásában: a centrális hisztamin befolyásolja az alvás-ébrenlét ciklusát, az anyagcserét valamint a neuroendokrin folyamatokat.

Vizsgálatainkban a hisztaminnak a táplálékfelvétel és az energia metabolizmus szabályozásában betöltött szerepét tanulmányoztuk vad típusú (VT) és hisztamin szintézisére képtelen, hisztidin dekarboxiláz génkiütött (HDC-KO) egereken.

A hisztamin-hiányos egerek idősebb korban elhíznak, viscerális zsírszövetük mennyisége megnő, vérükben magas a leptin koncentráció, vércukorszabályozásuk zavart, valamint hideg környezetben képtelenek a megfelelő energia-mobilizálásra.

Annak eldöntésére, hogy a vér magas leptin koncentrációja a zsírszöveti leptin expresszió megnövekedésének eredménye-e, real-time PCR módszerrel megvizsgáltuk a leptin expressziót VT és HDC-KO egerek különféle zsírszövet mintáiban. A leptin expresszió az epididymalis zsírszövetben a legmagasabb, mely 13-szorosa volt a barna zsírszövetben-, illetve háromszorosa a bőr alatti zsírszövetben mért értékeknek. Szignifikáns különbség azonban nem volt a VT és a HDC-KO egerek mintái között. Ezért a magas leptin koncentráció a megnövekedett zsírtömeggel magyarázható és nem az egyes zsírsejtek leptin expressziójának változásával. Mivel emberen az elhízás magas leptin koncentráció mellett leptin rezisztenciával jár, megvizsgáltuk a leptin receptor expressziót az egerek hipotalamuszában. A leptin receptor szignalizáló (long) formájának mennyisége azonban nem különbözött a vad és a hisztamin hiányos állatok esetében.

Mivel nagyszámú hisztaminerg végződés található az arcuatus mag orexigén (NPY) és anorexigén (POMC) neuronjainak közelében, in situ hibridizációs hisztokémiai vizsgálatokat végeztünk arra vonatkozóan, hogy ezen neuropeptidok expressziója hisztaminerg szabályozás alatt áll-e, és a hisztamin hiánya összefüggésbe hozható-e ezen neuropeptideken keresztül a HDC-KO egerek metabolikus fenotípusának kialakításában.

NEUBIOL-6

Az endomorfín-2 védőhatása A β 1-42-vel szemben CA1 hippocampus sejteken: *in vivo* egy-sejt elektrofiziológia

Juhász Gábor
 V. évf. biológus
 SZTE TTK, SZTE ÁOK Orvosi Vegytani Intézet
 témavezető: Dr. Penke Botond

Az Alzheimer-kór az egyik leggyakoribb neurodegeneratív betegség, mely még napjainkban is gyógyíthatatlan, csak tüneti kezelése lehetséges. A betegség kisebb részben örökletes, javarészt sporadikus előfordulású. Kialakulásában az amiloid-béta 1-42 (A β 1-42) felhalmozódása és fibrillumokká történő aggregációja játsza a kulcsszerepet. Hatásukra az idegsejtek degenerációja indul meg, melynek során elvesztik nyúlványaikat és megszűnik közöttük a szinaptikus összeköttetés, végül apoptotikus pusztulásuk megy végbe. Tjernberg és Soto munkásságának köszönhetően tudjuk, hogy az A β 1-42 bizonyos szakaszai meggátolják az amiloid aggregációját. Kutatócsoportunknak olyan pentapeptideket sikerült ebből kiindulva szintetizálnia, amelyek *in vitro* és *in vivo* tesztekben is sikeresen kivédtek az A β 1-42 toxikus és neuromodulátor hatását. A Soto által védő hatásúnak talált pentapeptiddel (LPFFD) egy, az agy számos területén endogén módon előforduló anyag, az endomorfín-2 (END II : YPPF) nagyfokú szekvenciabeli hasonlóságot mutat.

Kísérleteinkben *in vivo* elektrofiziológiai módszereket alkalmaztunk, melyek során a hippocampus CA1 régiójából végeztünk egy-sejt elvezetést. Korábbi kísérleteink alapján az A β 1-42 az NMDA-ingerlésre adott sejtválaszt fokozza. Tapasztalataink azt mutatják, hogy az END II kivédi az A β 1-42 által kiváltott neuromodulációt. Annak eldöntésére, hogy az END II receptoron át fejt-e ki hatását, kétféle kezelést alkalmaztunk. Az ún. ko-iontoforézis során az END II-t külön adagoltuk az A β 1-42 ejekciója előtt, míg a másik esetben a két anyag keverékével dolgoztunk. Keverék alkalmazásakor az A β 1-42 hatása elmaradt, a ko-iontoforézisnél nem. Az END II védő hatását így nem receptoron át fejt ki, hanem az amiloid-fibrillumok felszínéhez kötötte.

Ezek alapján az endomorfín-2 szekvenciája jó kiindulási alapot szolgáltat az Alzheimer-kór kialakulása elleni gyógyszerek tervezéséhez.

NEUBIOL-7

A neuropeptid FMRFamid szubsztrátként való bekapcsolódása a nitrogén-monoxid bioszintézisébe csigák ideghálózataiban

Kiss-Tóth Éva

IV. évf. biotechnológus

DE TTK Állatanatómiai és Élettani Tanszék

témavezető: Dr. Röszer Tamás

Az FMRFamid és rokon peptidjei a metazoáktól kezdve az egész állatvilágban elterjedt szignálmolekulák, melyek a gerinctelenekben a simaizmok és a chromatophorák működését szabályozzák, de megtaláljuk őket a retinában és a gerinces agytörzsben is. Korábbi munkánk szerint a tetrapeptid FMRFamidot tartalmazó idegsejtek végződéseinek nitrogén-monoxid-szintetáz (NOS)-tartalmú sejteket vesznek körül több csigafaj idegdúcaiban és perifériás ideghálózataiban. A dúcokban az FMRFamid koncentrációjának növelésével telítési érték megjelenése nélkül fokozódik a nitrogén-monoxid (NO)-produkció, mely azonban csökkenthető amilorid-hidrokloriddal (AH) az FMRFamid által szabályozott Na^+ -csatornák gátlószerevel. Mindez az FMRFamid két lehetséges hatásmechanizmusát jelzi: (1) a sejtmembrán Na^+ -csatornáin keresztül induló jelátviteli út fokozza a NOS aktivitását, (2) az arginin-tartalmú peptid a NOS szubsztrátjává válik. Utóbbi feltevésünk igazolására jelen munkánkban csigák NOS-tartalmú idegszövegeiben vizsgáltuk a NOS szubsztrát L-arginin és az FMRFamid NO-szintézisre kifejtett hatását. A hatásmechanizmus vizsgálatakor Na^+ -csatorna blokkolók (AH, tetrodotoxin, lidokain), FMRFamid antitest, D-arginint tartalmazó peptid, a peptid hidrolízisét gátló proteáz inhibitorok és Na^+/K^+ -ATP-áz gátló ouabain hatásait teszteltük. A neuronális NO-szintézist a NO származékának tekinthető nitrit-ionok mennyiségi meghatározásával követtük. L-arginin és FMRFamid dózisfüggő nitrit-produkció növekedést váltott ki a vizsgált szövetekben és azok homogenizátumaiban, mely hatás N- ω -nitro-L-arginin (NOS inhibitor) jelenlétében nem jelentkezett. Az FMRFamidot felépítő fenil-alanin és metionin önmagukban hatástalannak bizonyultak. Nyúlban termelt anti FMRFamid-immunglobulin növekvő koncentrációja a szöveti nitrit-termelést arányosan csökkentette. A Na^+ -csatorna blokkolók mindegyike csökkentette az FMRFamid hatását. Nem metabolizálódó D-arginin tartalmú FMRFamid, proteáz inhibitorok és Na^+/K^+ ATP-áz gátló alkalmazásakor csökkenő nitrit-szintet tapasztaltunk. Összegezve, az FMRFamid egy eddig nem ismert módon is serkenti a NO bioszintézisét: az intracelluláris térbe jutva proteázok segítségével alkotóira hidrolizál és arginin tartalma szubsztrátként szolgál a NOS számára.

NEUBIOL-8

Az endokannabinoid rendszer szerepe humán epilepsziában

Ludányi Anikó

V. évf. biológus

ELTE TTK Biokémiai Tanszék, MTA KOKI Celluláris és Hálózat-Neurobiológiai

Osztály

Témavezető: Dr. Katona István

A CB_1 kannabinoid receptor az egyik legnagyobb mennyiségben megtalálható receptor az agyban. A hippocampusban ezt a receptort a piramis sejtek GABAerg gátlásáért felelős interneuronok egy csoportja expresszálja. A CB_1 közvetítésével retrográd jelátvitel valósulhat meg a szinapszisban, vagyis a poszt-szinaptikus piramis sejt szabályozhatja saját aktivitását a preszinaptikus sejt GABA ürítésének gátlásával. Egy epilepsziás roham kialakulásában szerepe lehet a GABAerg gátlás patofiziológias elváltozásának, és az endokannabinoid rendszer tagjai is szerepet játszhatnak az epilepsziás roham szabályozásában. Állatkísérletekben a CB_1 szintetikus agonistái illetve antagonistái, valamint a receptor természetes ligandjai kiválthatnak rohamokat vagy épp antiepileptikumként hathatnak. A természetes ligandok, az endokannabinoidok mennyisége pedig változhat egy epilepsziás rohamot követően. A 2-arachidonoil-glicerinnel endokannabinoid szintjét a szintetizáló diacylglicerinnel lipáz, illetve a lebontást végző monoglicerid lipáz szabályozza, az anandamid endokannabinoid szintjét pedig a szintetizáló N-arachidonoil foszfatidil-etanolamin foszfolipáz D, illetve a degradációt végző zsírsavamid hidroláz. Kísérleteink során az endokannabinoidok szintézisét illetve lebontását végző enzimek, valamint a CB_1 receptor expressziós szintjét vizsgáltuk epilepsziás betegekből származó hippocampusz mintákban, és ezt hasonlítottuk össze nem epilepsziás kontroll hippocampusz mintákkal. A kapott szövetekből totál RNS-t vontunk ki, majd reverz transzkripcióval cDNS-t állítottunk elő belőle, amelyből kvantitatív real-time PCR segítségével következtettünk a gének expressziós szintjére. Az endokannabinoidok mennyiségének szabályozásáért felelős enzimek expressziós szintjében nem találtunk szignifikáns változást, a CB_1 receptor expressziója ellenben szignifikáns csökkenést mutatott a kontroll csoporthoz képest. Mindebből arra következtethetünk, hogy az állatkísérletekben mesterségesen kiváltott akut epilepszia vizsgálata nem minden esetben megfelelően alkalmazható a humán epilepszia által okozott krónikus elváltozások megértéséhez.

NEUBIOL-9

A béta-amiloid peptid által okozott memóriadeficit vizsgálata nem transzgenikus állatmodellen

Rosta Judit

V. évf. biológus

SZTE TTK Összehasonlító Élettani Tanszék

témavezetők: Dr. Penke Zsuzsa, Dr. Toldi József

Napjaink egyik legintenzívebben kutatott betegsége a jelenkor idősödő populációiban egyre nagyobb problémát jelentő, a demenciák leggyakoribb okává vált Alzheimer-kór (AD). A megbetegedés hátterében meghúzódó molekuláris mechanizmusok még nem pontosan ismertek, de számos bizonyíték áll rendelkezésre a béta-amiloid (A β peptid), illetve a peptid aggregálódása során képződő amiloid-plakkok AD-ben játszott központi szerepéről.

Kísérleteink célja egy érvényes, az A β által okozott memóriadeficit kimutatására alkalmas patkánymodell kialakítása volt, mely felhasználható az AD vizsgálatában. Intracerebroventrikulárisan injektált A β hatását figyeltük meg a térbeli tanulásra-Morris-féle vízi labirintusban és Y labirintusban- és egyéb magatartási paraméterekre (nyílt porondon). Ezzel párhuzamosan gyógyszerjelölt pentapeptidek A β neurotoxicitását kivédő tulajdonságát is vizsgáltuk.

Az A β neurotoxikus hatása rövid és hosszú távon is kimutatható volt, mivel az A β -val kezelt állatok rosszabbul teljesítettek a térbeli tanulást mérő tesztekben. A pentapeptid neuroprotektív hatása is megmutatkozott. További kísérleteinkben célunk új gyógyszerjelöltek hatékonyságát tesztelni.

NEUBIOL-10

A kapszaicin (TRPV1) receptor szerepének vizsgálata krónikus ízületi gyulladással egérmódelben

Sándor Katalin

2004, biológia

PTE TTK, PTE ÁOK Gyógyszertani Tanszék

témavezető: Dr. Helyes Zsuzsanna

A kapszaicin-érzékeny, TRPV1 receptort expresszáló, primér szenzoros neuronok a klasszikus afferens működésen (nocicepció) kívül lokális és szisztémás efferens funkciókkal is rendelkeznek. A perifériás végződéseikből aktiváció hatására felszabaduló gyulladáskeltő neuropeptidek lokális neurogén gyulladást váltanak ki, míg a szomatosztatin szisztémás gyulladásgátló és fájdalomcsillapító hatással rendelkezik. Jelen kísérletsorozat célja a TRPV1 receptor szerepének vizsgálata volt gyulladással és fájdalom folyamatokra krónikus arthritis módelben. A TRPV1^{+/+}, vagyis vad típusú és TRPV1^{-/-}, vagyis KO egerek tibio-tarzási ízületében krónikus gyulladást indukáltunk, komplett Freund adjuváns (CFA) intraplantáris és faroktöbe történő subcutan (s.c.) adásával.

A lábak térfogatát pletizmométerrel, a mechanikai fájdalomküszöböt aesthesiométerrel mértük két naponta 3 hétig, az ízületekből szövettani vizsgálatokat végeztünk. A lábduzzadás, a szövettani változások és a hiperalgémia végig szignifikánsan kisebb volt a TRPV1 KO egerekben. A TRPV1 receptor természetes aktivátorainak azonosítására a vizsgálandó anyagokat, a lipoxigenáz gátló nordihidroguarénsavat (NDGA), a bradykinin B1 receptor antagonistá HOE-140-et, a B2 antagonistá desArg-HOE140-et és a ciklooxygenáz gátló indometacint naponta i.p. alkalmaztuk. Az indometacin kifejezettebb gátlást okozott a vad típusú egerekben, elsősorban a korai stádiumban. A desArg-HOE-140 hatástalan volt, az NDGA és a HOE-140 csak a vad csoportban csökkentette az artritisz súlyosságát. Eredményeink azt mutatják, hogy krónikus gyulladásban a TRPV1 lipoxigenáz, ill. ciklooxygenáz termékekkel történő aktivációja, valamint bradykinin B2 receptoron keresztüli szenzitizációja hozzájárul az ödéma és a fájdalom fokozódásához.

TRPV1 receptor antagonisták tehát új hatásmechanizmusú terápiás lehetőséget jelenthetnek krónikus gyulladással betegségek kezelésére.

NEUBIOL-11

Rovarölőszerek idegrendszeri hatásának vizsgálata

Varró Petra

V. évf., biológus

ELTE TTK Élettani és Neurobiológiai Tanszék

témavezető: Dr. Világi Ildikó, Dr. Győri János

A vegyi anyagok egészség- és környezetkárosító hatásának becsléséhez nélkülözhetetlen a szerek idegrendszerre kifejtett hatásainak minél alaposabb ismerete. Kísérleteimben két rovarölőszert, a bensultap és a fipronil hatásait vizsgáltam *in vitro*, a perfúziós oldatban feloldva őket.

A bensultap egy új típusú, neonikotinoid rovarirtószert, amely a rovarok szervezetében nereistoxinná alakul át. A toxin antagonistán módon hat a nikotinos acetilkolin-receptorra (nAChR). Maga a bensultap, a toxin előanyaga is hat a nAChR-okra, és átjut a vér-agy gáton is. Ezért *in vitro*, közvetlenül az agyszöveten alkalmazva is vizsgálható.

Emlősök agyában az nAChR-ok többek között az agykéregben is megtalálhatóak, pre- és poszt-szinaptikus helyzetben egyaránt. A preszinaptikus receptorok serkentik a glutamát felszabadulását, a poszt-szinaptikus receptorok pedig szintén serkentő hatásúak.

A vizsgálatokat laboratóriumi patkány agykérgéből készített túlélő agyszeleteken végeztem, extracelluláris field potenciálok mérésével. Azt vizsgáltuk, hogy az anyag hogyan befolyásolja az ingerelhetőséget. A hosszú távú szinaptikus plaszticitás azzal jellemezhető, hogy milyen mértékben alakul ki LTP (long term potentiation). A kezelt szeletekben a kontroll szeletekhez képest körülbelül 50%-kal kisebb mértékben nőtt a kiváltott válasz az LTP kialakítása során. A rövid távú plaszticitást páros ingerléssel vizsgáltuk. Erre a jelenségre a bensultapnak nem volt hatása. Ezek az eredmények összhangban vannak elvárásainkkal, hiszen a nAChR-ok gátlásától az ingerelhetőség általános csökkenését vártuk.

A fipronil az ionotróp GABA-receptorokat gátolja, emlős receptorokhoz is kötődik. Emellett a vízi gerinctelenekre nagyon mérgező. A fipronillal kapcsolatban azt vizsgáltam, hogy mocsári csiga GABA-szenzitív neuronjain megváltoztatja-e az akcióspotenciál-mintázatot. Intracelluláris mikroelektroddal regisztráltuk az akciós potenciálokat, majd kiértékeléskor az interspike-intervallumok gyakoriságát mértük. A fipronil koncentrációtól függő mértékben növelte a spike-ok között eltelt időt. Ez az eredmény azzal magyarázható, hogy csigákon a GABA általában depolarizáló hatású, serkentő transzmitter, így a GABA-receptor-antagonista anyagok gátló hatásúak.

NEUFIZ-1

Az ösztrogén gyors hatása a bazális előagy kolinerg sejtjeiben

Balog Júlia

V. évf. biológus

ELTE TTK, ELTE-MTA Neurobiológiai Kutatócsoport

témavezetők: Szegő Éva, Dr. Ábrahám István, Dr. Juhász Gábor

Az ösztrogén klasszikus, genomális hatása mellett létezik egy gyors, „nem-genomális” hatás is, mely a másodlagos hírvivő rendszereken keresztül percek alatt jelenik meg. Hathat például a Ca^{2+} -n, a cAMP-n illetve a kulcsszerepet játszó transzkripciós faktoron, a cAMP-Response Element Binding Protein (CREB) keresztül. Ismert, hogy a központi idegrendszerben is van az ösztrogénnek gyors hatása különböző területeken (pl. hippokampusz, hipothalamusz). Kutatócsoportunk korábban kimutatta, hogy az ösztrogén képes foszforilálni a CREB-et Gonadotrop Releasing Hormon termelő (GnRH) neuronokban *in vivo*. Jelen kísérletünkben a bazális előagy és a striatumban lévő kolinerg neuronokban vizsgáltuk az ösztrogén gyors hatását.

Kísérleteink során kettős jelöléses immunhisztokémiát alkalmazva (kolin-acetiltranszferázra (ChAT) és pCREB-re, ill. CREB-re), az ösztrogén 15 perces hatását vizsgáltuk ovariektomizált nőstény egerekben a mediális septum/Broca-féle diagonális kötegben (MS/DB), a substancia innominata-ban (SI), és a striatumban (STR), *in vivo*. A kettősen jelölt sejtek száma (pCREB/ChAT) több mint kétszeresére nőtt mindkét előagy területen ösztrogén kezelést követően, míg a kontroll területen (STR-ban) nem változott. *In vitro* kísérleteinkben vizsgáltuk, hogy az ösztrogén közvetlen, vagy indirekten, pl. interneuronokon keresztül hat a kolinerg sejtjeire: Túlélő agyszeleteken az ösztrogén-expozíciót megelőzően a sejteket tetrodotoxinnal (TTX) elektromosan izoláltuk. Kimutattuk, hogy a TTX nem volt hatással az ösztrogén indukálta CREB foszforilációra.

Vizsgálatainkkal bebizonyítottuk, hogy az ösztrogén képes gyorsan (15 perc) foszforilálni a CREB-et a bazális előagy kolinerg sejtjeiben, és ez a hatás közvetlenül érvényesül. Kísérleti eredményeinkkel elsőként bizonyítottuk, hogy az ösztrogén jelentős nem-genomális hatással rendelkezik a bazális előagy kolinerg sejtjeiben *in vivo*.

NEUFIZ-2

A mediális septum potenciális ritmusgeneráló sejtjeinek tüzelési mintázat analízise

Hangya Balázs

IV. évf. matematikus

ELTE TTK, MTA Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet

témavezetők: Varga Viktor, Borhegyi Zsolt

A hippocampus döntő szerepet tölt be különböző memóriatípusok kialakításában és tárolásában. A vele reciprok kapcsolatban álló mediális septum (MS) kulcsfontosságú az információszerző viselkedések és REM alvás alatt regisztrálható hippocampális EEG mintázat – a theta oszcilláció – létrejöttében. A MS hippocampusba vetítő sejtjeinek jelentős része a hippocampális theta-val szinkron, ritmosos aktivitást mutat, valamint a MS sejtek egy részén kimutatták a szív ritmus generálásában is résztvevő H-áram kialakulásáért felelős HCN csatornákat. Kísérleteink célja e sejtek szerepének tisztázása a hippocampális theta szabályozásában. Ehhez juxtacelluláris technikával, urethan-nal altatott patkány MS sejtjeinek aktivitását az egyidejű hippocampális EEG-vel együtt regisztráltuk. A neuronok jelölését követően HCN expressziójukat kettős immuncitokémiával igazoltuk, majd elvégeztük a sejtek komplex elektrofiziológiai analízisét.

Az EEG wavelet spektrumfelbontásának segítségével három állapotot különböztettük meg: külön vizsgáltuk a döntően theta aktivitást mutató, a theta ritmust dominánsan nem tartalmazó és egy másik jellegzetes EEG mintázat, az éles hullámmal jellemezhető szakaszokat, hogy biztosítsuk az elemzett felvételszakaszok időbeli stacionaritását és kísérletek közötti összehasonlíthatóságát. Az így azonosított szakaszokon elemeztük a MS sejtek tüzelési mintázatát. Az ezekre a neuronokra jellemző aktivitás mintázatot, mely egyéni illetve csoportosuló akciós potenciálok (burst-ök) keveréke, az általunk fejlesztett - Ward-féle cluster analízisre épülő - módszerrel vizsgáltuk.

Bár a neuronok tüzelési mintázata és a hippocampális theta közötti kapcsolat részletesebb elemzése folyamatban van, minden eddig analizált HCN-t expresszáló sejt a hippocampus-szal szinkronizált, ritmosos, burst-ölő sejtnek bizonyult, ami arra utal, hogy ezek a sejtek a septo-hippocampális theta-genezisben fontos szerepet tölthetnek be.

NEUFIZ-3

Dendritikus Ca²⁺ spike-ok szerepe a hippocampális helysejtek aktivitásában

Huhn Zsófia

V. évf. biológus

ELTE TTK, MTA KFKI Biofizika Osztály

témavezető: Dr. Lengyel Máté, Orbán Gergő, Dr. Érdi Péter

A hippocampusz alapvető szerepet játszik a patkányok tájékozódásában: a hippocampusz egyes helysejtjei képesek a környezet egyes térrészeit (a helymezőket) reprezentálni. Mialatt az állat áthalad egy adott helysejt helymezőjén, a sejt tüzelési frekvenciája jelentősen megnő, és a következő tüzelési mintázatot mutatja: a hippocampális theta-hoz viszonyított tüzelési fázisa folyamatosan csúszik, monoton módon csökken (fázis-precesszió), míg pillanatnyi tüzelési frekvenciája körülbelül a helymező közepének eléréséig növekedik, majd pedig csökken. A jelenséget egy két-kompartmentes, feszültségfüggő Na⁺, K⁺ és Ca²⁺ csatornát tartalmazó modell-sejten tanulmányoztuk. Egy olyan mechanizmust javasolunk, amelyben a helysejt fenti tüzelési mintázatát a helyi gátlósejtek által kiváltott szomatikus membránpotenciál-oszcilláció és a perforáns pálya input által serkentett repetitív dendritikus Ca²⁺ spike-ok kölcsönhatása alakítja ki. Modellünkben a dendritikus spike-ok mindegyik theta ciklusban azonos fázisban (stabil fázis) jelentkeznek mindaddig, amíg az állat be nem lép a sejt helymezőjébe. A fázis-csúszást a helymezőbe éréskor az entorhinális kéregből érkező megnövekedett serkentés indítja be, és annak sebességét a serkentés mértéke határozza meg. Azonban ha ez a perforáns-pályán keresztül érkező plusz-serkentés a helymező második felében hirtelen megszűnik, a modell szerint a fázis-csúszás mégsem áll meg, hanem folytatódik a stabil fázis eléréséig. A jelenség egyrészt magyarázata lehet annak a kísérletes megfigyelésnek, miszerint a tüzelési fázisok szórása nagyobb a helymező második, mint az első felében, másrészt hozzájárulhat a hippocampusz fázis-kódjának stabilitásához.

NEUFIZ-4

A szerotonin 2-es receptorcsalád egyik altípusának, az 5-HT_{2B} receptornak a szerepe az alvás szabályozásában

Molnár Eszter, Benkő Anita

III. és IV. évf. pszichológia

KRE BTK, Pszichológia Tanszék

témavezető: Dr. Kántor Sándor, Dr. Bagdy György

Emberekben és rágcsálókban kimutatták, hogy a szerotonin-2 receptor antagonisták, mint a ritanserin, növelik a mély alvás (MA) időtartamát és csökkentik az EEG aktivitását az alacsony frekvenciatartományban. Talán, az 5-HT_{2A} és 5-HT_{2C} receptorok állhatnak ennek a változásnak a hátterében, viszont az 5-HT_{2B} receptor szerepe ebben a folyamatban még nem tisztázott.

Annak érdekében, hogy megállapíthassuk az 5-HT_{2B} receptor alvás/ébrenlét ciklusban betöltött funkcióját, egy nagy szelektivitással rendelkező antagonistát, az SB-215505-t (0.1, 0.3 és 1.0 mg kg⁻¹ i.p.) használtuk Sprague-Dawley patkányokon. Az anyagot a világos periódus elején (a passzív szakasz kezdetén) kapták az állatok. EEG, EMG és motoros aktivitás adatait rögzítettük a kezelést követő első 8 órában.

Az SB-215505, az első órában, dóziszfüggően növelte az ébrenlétet a köztes stádium, a paradox alvás (PA) és a mély alvás (MA) terhére. Az ébrenlét növekedésével párhuzamosan növekedett az állat motoros aktivitása. Az ébrenlét alatti EEG teljesítménysűrűség elemzése dóziszfüggő csökkenést mutatott a 3-8 Hz tartományban. A felszínes alvás (FA) és az MA ideje alatt az anyag szignifikánsan (dóziszfüggően) csökkentette az EEG teljesítménysűrűséget az alacsony frekvenciatartományban (< 8 Hz). Emellett, az anyag dóziszfüggő csökkenést okozott a PA alatt a theta tartományban (7 Hz). Az eredmények alapján elmondhatjuk, hogy az 5-HT₂ antagonisták mélyalvást fokozó hatásukat az 5-HT_{2A} és/vagy 5-HT_{2C} receptorokon fejtik ki. Ezzel ellentétben, az 5-HT_{2B} receptor növelte az ébrenlétet és csökkentette a theta aktivitást mind az ébrenlét, mind a PA alatt.

NEUFIZ-5

Fény-kiváltott potenciálok elektrofiziológiai vizsgálata alvás-ébrenlét ciklus és agykérgi hiperszinkronizáció során

Oláh Márta

V. évf. biológus

ELTE TTK Élettani és Neurobiológiai Tanszék, MTA-ELTE Neurobiológiai

Kutatócsoport

témavezetők: Lőrincz László Magor, Dr. Juhász Gábor

A látópálya különböző pontjain regisztrálható, fény-kiváltott potenciálok jellegzetes morfológiával rendelkeznek, több komponensből állnak. Ismert, hogy ezen komponensek különböző paraméterei (latencia, amplitúdó) a látókérgi fény-kiváltott potenciál (VEP) esetében, a kérgi szinkronizáció mértékének függvényében változnak. Nem ismert azonban az, hogy változik-e a nervus opticus és a retina kiváltott válasza, azaz kimutathatók-e szinkronizáció-függő elektrofiziológiai változások a thalamikus átkapcsolódás előtt is. Az általánosan elfogadott felfogás szerint a VEP-ek esetében tapasztalható különbségeket a thalamusz reléfunkciója a felelős. Adataink azonban azt mutatják, hogy bizonyos változások már a thalamusz előtt bekövetkeznek. A kérdés eldöntésére jó modellnek bizonyult a genetikusan thalamo-kortikális epilepsziával rendelkező WAG/Rij patkánytörzs, amelyben a *petit mal* rohamok során a kéreg hiperszinkronizált állapotba kerül. A másik modellünk a nem-epilepsziás patkányok (Sprague Dawley, SPRD) normál alvás-ébrenlét ciklusa volt. Fényingerekkel kiváltott potenciálokat regisztráltunk a corneáról, a chiasma opticumból illetve a vizuális kéregről, szabadon mozgó állatokban, WAG/Rij patkányokban SWD (spike-wave discharge) rohamok alatt, SPRD állatokban pedig alvás-ébrenlét állapotokban. Adataink igazolták, hogy mind epilepsziás rohamok alatt, mind az egyes alvási stádiumokban mérhető szinkronizációval korreláló változás a látópálya mentén a thalamusz előtti struktúrákban. A kortikális szinkronizáció mértéke és a különböző helyeken regisztrált fény-kiváltott potenciálok paramétereinek megváltozása közötti összefüggés valószínűleg a cortex-nucleus raphe dorsalis-retina kapcsolatnak, esetleg részben a tervezetés jelenségnek köszönhető. A változások azonban viszonylag kicsik, és a vizuális pálya ingerlést követő aktivációja a teljes pálya mentén jelentős marad epilepsziás és alvási szinkronizáció alatt is.

NEUFIZ-6

A neurogliaform sejtek elektromos és kémiai szinapsziszai

Oláh Szabolcs
V. évf. biológus
SZTE TTK Összehasonlító Élettani Tanszék
témavezető: Dr. Tamás Gábor

A GABAerg neuronok elektromos szinapsziszokkal kapcsolódva sejtípus specifikus hálózatot alkotnak, amelyek hozzájárulnak az agykérgi neuronhálózatok szinkronizált működéséhez. A neurogliaform sejtek lassú gátló válaszokat váltanak ki posztszinaptikus piramis sejteken. Neurogliaform sejtek egy akciós potenciálja, ellentétben más agykérgi interneuron típusokkal, megbízhatóan aktivál összetett, GABA_A és GABA_B receptor közvetítette gátló posztszinaptikus választ. Azonban az, hogy a neurogliaform sejtek hogyan vannak elektromos szinapsziszok által hálózatba rendezve, még kevésbé ismert. Ennek a kérdésnek az eldöntésére, whole cell patch clamp technikával agykérgi idegsejt-párokból, hármaskból, négyesekből végeztünk elvezetésekkel 20-30 napos patkányok szomatoszenzoros kérgének II/III rétegéből és neurogliaform sejtek kapcsolatait vizsgáltuk más, elsősorban GABAerg sejtekkel. Eredményeink azt mutatják, hogy neurogliaform sejtek elektromos szinapsziszokat alkottak más neurogliaform sejtekkel (n=8 sejt-pár), gyorsan tüzelő kosársejtekkel (n=5), és szabályosan tüzelő nempiramis sejtekkel (n=5), bitufted sejtekkel (n=2) és egyéb, azonosítatlan interneuronokkal (n=2). A neurogliaform sejtek közötti elektromos kapcsolat 7 sejt-pár esetében lassú IPSP-kel párosult. Az elektromos szinapsziszokkal kapcsolt neurogliaform sejtek lassú, GABA_A és GABA_B receptor közvetítette válaszokat váltottak ki a posztszinaptikus interneuronokon, a réskapcsolat potenciálok mellett (n=24). Az elektronmikroszkóppal igazolt réskapcsolatok (n=4) a neurogliaform sejtek proximális dendritjei és a kapcsolt interneuronok sejttestjei vagy proximális dendritjei között helyezkedtek el. Eredményeink arra utalnak hogy a neurogliaform sejtek réskapcsolat-hálózatot alkothatnak neurogliaform és más GABAerg sejtekkel.

NEUFIZ-7

A β -amyloid és egyéb, emlős idegszöveten hatásos neuroaktív vegyület vizsgálata *Lymnaea stagnalis*-on

Orbán Gergely
V. évf. biológus
ELTE TTK Élettani és Neurobiológiai Tanszék, MTA-ELTE Neurobiológiai Kutatócsoport
témavezető: Dr. Juhász Gábor

Számos neurodegeneratív betegség kialakulása köthető valamilyen, az idegrendszerben előforduló fehérje hibás feldolgozásához. Az egyik ilyen molekula a β -amyloid, amely az amyloid prekursor protein (APP) hibás hasításakor jön létre, és β -aggregációra hajlamos. Fontos szerepet játszik az Alzheimer – kór kialakulásában. A magas aggregációs fokú β -amyloidot kulcsfontosságú tényezőnek tartották a neuronpusztulás kiváltó okai között, azonban, jelenleg az a nézet az elfogadott, hogy az alacsony aggregáltságú β -amyloid a legtoxikusabb. Nem ismert az, hogy az aggregációs fok és az aggregátum elhelyezkedése az idegrendszer szöveti kompartmentjeiben milyen összefüggésben van. Nem tudjuk tehát azt sem, hogy a toxicitásnál alacsonyabb amyloid koncentráció esetén már fellépő szinaptikus jelátviteli zavarok és az aggregációs fok összefügg-e. A meglévő adatok szerint a β -amyloid oldható oligomerjei interferálnak a szinaptikus működésekkel, zavarva ezzel a tanulási és memória folyamatokat. Azonban az eredményeket nem kellően ellenőrzött aggregációs összetételű amyloid oldatokkal kapták, így az oligomerekről szóló elképzelés kissé spekulatív. *Lymnaea stagnalis* (mocsári csiga) cerebrális ganglionjában található agyi óriássejt (CGC), és a vele monoszínaptikus kapcsolatban levő posztszinaptikus bukkális ganglion B4-es motoneuron kapcsolatot vizsgálva, a monoszínaptikus kapcsolat erősségének tesztelését végeztük. Vizsgáltuk a β -amyloid CGC-sejt nyugalmi potenciáljára gyakorolt hatását is. Ezen felül a CGC-t vizsgáltuk kételektrodos feszültség-zár módszerrel is. Az 1-42-amyloid monomer hatására a CGC sejten erős hiperpolarizációt tapasztaltunk, míg a monoszínaptikus kapcsolat erősségére nem volt hatással. Eredményeinket megerősítettük patkány hippocampus pop-spike mérésekkel is ahol β -amyloid kevert aggregációs fokú oldatának hatására az emlős modellben jelentős excitabilitás csökkenést tapasztaltunk. A β -amyloid hatásának vizsgálatán kívül egy memóriazavarok kezelésére kifejlesztett molekula hatását is teszteltük a *Lymnaea* modellen. Kísérleteink szerint a gerinctelen és gerinces modellekben párhuzamosan végzett vizsgálatok igen hatékony megközelítésnek bizonyultak.

NEUFIZ-8

Az LPS immunrendszer által közvetített hatásai az epileptogenezisre

Szabó Gergely

V. évf. biológus

ELTE TTK, MTA-ELTE Neurobiológiai Kutatócsoport

témavezetők: Dr. Juhász Gábor és Dr. Szilágyi Nóra

Az LPS (lipopoliszacharid) egy endotoxin, mely a baktériumok sejtfalában található – ezt ismerik fel a természetes immunrendszer elemei bakteriális fertőzéskor, és a szervezetben egyik receptora a TLR4. A kutatás alapfeltevése az volt, hogy az LPS valamilyen módon beavatkozik az EEG szinkronizációért felelős talamokortikális rendszer oszcillatórikus aktivitásába és ezáltal megváltoztatja az epilepsziás roham alatti jellegzetes EEG-mintázat képét. Ezt arra alapoztuk, hogy az LPS citokineket szabadít fel a gliasejtekből és az IL-1 β hatékony EEG szinkronizáció indukáló anyag. A kísérletekhez két különböző patkánytörzs krónikusan műtött egyedeit használtuk. Az abszensz epilepszia genetikai modelljeként számotartott WAG/Rij patkányok EEG-jén megfigyelhető a rohamra jellemző HVS (High Voltage Spindle) mintázat, a míg a Wistar törzsnél csak időskorban jelentkezik ez. Az LPS-szel kezelt WAG/Rij és idős Wistar állatokban a kontrollhoz képest több és hosszabb HVS szakaszt számoltunk. Ezután a HVS-t tartalmazó EEG fragmentumokat Wavelet-spektrum analízisnek vettük alá, mely megmutatta, hogy az LPS nemcsak a rohamok hosszát és gyakoriságát növeli, hanem az EEG genesisébe beavatkozva azok belső mintázatát is megváltoztatja. Vajon a talamokortikális visszacsatolás hogyan határozza meg a HVS kialakulását, ennek van-e kapcsolata a hasonló mintázatú alvási orsók képződésével, hol található a domináns oszcillátor központ és hogyan hat mindezekre az LPS? Ennek megválaszolásához olyan krónikusan műtött állatokat használtunk, melyekben a talamusz ventrobazális magcsoportjába is helyeztünk el mélyelektrodot. Az LPS agyi receptorának a TLR4-et tartják, melyet immunhisztokémiai és Western-blot módszerekkel sikerült kimutatnunk a kortexben. Adataink alapján a WAG/Rij patkány modell igen hatékony lehet a neuro-immun kölcsönhatás vizsgálatában, különösen az eddig csak nehezen tanulmányozható lázgörcs mechanizmusok feltárásában.

NEUFIZ-9

Az agresszivitás hátterében álló gátló mechanizmusok és azok megváltozása patológiás esetekben

Tóth Máté

V. évf. biológus

ELTE TTK, MTA KOKI Magatartás-Neurobiológiai Osztály

témavezető: Dr. Haller József

Az agresszivitás alapvetően egy adaptív viselkedésforma, mely összetett idegi és hormonális szabályozás alatt áll. Léteznek azonban deviáns formái is, melyek eltérő neuroendokrin, elváltozásokkal jellemezhetők. Ezekben meghatározó komponens a szerotonerg rendszer, melynek impulzivitást gátló hatása az egyik legkövetkezetesebbnek tűnő eleme a pszichiátriának. A másik fő agresszivitást mérséklő agyterület a prefrontális kortex.

Kísérleteinkben azt vizsgáltuk, hogy ezen területek szerepe miként alakul agresszív interakciók folyamán, illetve mennyiben vesznek részt patológiás jellegű agresszív magatartások kialakulásában. Ennek vizsgálata eddig főként humán felmérésekben történt, míg a korábbi állatkísérletek az agresszivitás természetes formájának, és mechanizmusainak feltárását szolgálták. Kísérleteinkben mind a természetes, mind az abnormális agresszivitást vizsgáltuk. Ez utóbbi agresszióforma vizsgálatára egy több szempontból is validált, humán helyzettel analóg állatmodell alkalmaztunk, amely lehetőséget teremt a violencia állatmodellben történő vizsgálatára.

Az állatok agresszivitását a rezidens-betolakodó tesztben tanulmányoztuk. A magatartást szabályozó idegrendszeri folyamatok felderítését a neuronális aktivitás azonosítását célzó c-Fos immuncitokémiával, illetve az aktiválódott neuronok funkcionális karakterizálására alkalmas kettős festésekkel végeztük.

Eredményeink azt mutatják, hogy a természetes és abnormális agresszióforma magatartási jellegzetességei minőségileg különböznek. A minőségi különbségek hátterében a szerotonerg, és prefrontális szabályozás megváltozása áll. Az állatok természetes agressziója mindkét terület erős aktivációját váltotta ki, részben már az agresszivitást megelőző felkészülési fázisban is. E két terület aktivációja szoros korrelációban volt a természetes agresszív magatartásokkal, ami bizonyítja, hogy fontos szerepet játszottak a természetes agresszió szabályozásában. Az abnormális agressziós modellben ez a korreláció nem nyilvánult meg, ami arra utal, hogy e két agyterület szerepe valamilyen módon felülíródott. Úgy tűnik tehát, hogy az abnormális agresszió szabályozásában e két fontos agressziót gátló agyterület nem vesz részt, ami magyarázatul szolgálhat az agresszió abnormális megnyilvánulásainak kialakulására.

NEUFIZ-10

Theta-szinkronizáció a mediális szeptumban pacemaker sejtek kölcsönös kapcsolatai révén

Ujfalussy Balázs

V. évf. biológus

ELTE TTK, MTA KFKI RMKI, Biofizika Osztály, Budapest, Center for Complex Systems Studies, Kalamazoo College, Kalamazoo, MI, USA

témavezető: Orbán Gergő, Kiss Tamás, Érdi Péter

A mediális szeptum, mint jelentős összekötő terület az agytörzs és a hippocampus között, a hippocampális oszcillációk kialakításában és szabályozásában kiemelt szerepet játszik. Ismert, hogy a GABAerg sejtek jelentős része theta aktivitás alatt periodikusan bursztól. A bursztók fázisa a hippocampusban mérhető theta oszcillációhoz csatolt, legújabb eredmények alapján bimodális: egyes sejtek a hippocampális theta negatív, mások a pozitív csúcs közelében tüzelnek. Olyan számítógépes modell építését tűztem ki célul, mely magyarázattal szolgál a szeptális theta oszcilláció keletkezésére, és a mediális szeptum GABAerg sejtjeinek tüzelési mintázatait reprodukálja. A szeptális GABAerg sejtek tartalmaznak egy lassú kálium áramot, ez az alapja theta frekvenciás burstoló aktivitásuknak. A bimodális fáziseloszlás két, antifázisban oszcilláló populáció jelenlétére utal, ennek megfelelően alakítottam ki a sejtek közötti kapcsolatokat. A gátló szinapszisok révén a sejtek szinkronizálódnak, s így a mechanizmus a fiziológias theta oszcilláció alapjául szolgálhat. Megvizsgálom, hogy milyen hatással van az oszcillációra a hippocampális visszacsatolás. A modell azt mutatja, hogy a szeptális theta-t jelentősen befolyásolhatja a hippocampusból szeptumba vetítő sejtek aktivitása. Ha ezek a sejtek szinkronizálódnak, erősítik a szeptális oszcillációt, ha tüzelésük aperiodikus, akár le is rombolhatja a szeptum szinkronizációját.

A kutatócsoport munkáját a Henry Luce Foundation és a Pfizer Corporation támogatta.

NÖVET-1

Alakor (*Triticum monococcum* L. ssp. *monococcum*) gyomelnyomó hatásának vizsgálata szabadföldi és laboratóriumi kísérletekben, különös tekintettel a parlagfűre (*Ambrosia artemisiifolia* L.).

Bartl Katalin, Üveges Viktória

V. évf. kémia-környezettan, III. évf. környezettudomány

VE TK Botanika Tanszék

témavezető: Dr. Szabó T. Attila

A téma jelentősége: Magyarország legveszedelmesebb allergén özöngyomja a parlagfű, mely a világon itt legelterjedtebb (BÉRES 2003). Az általunk vizsgált termesztett kárpáti alakor törzsek szabadföldi és laboratóriumi kísérletekben mutatott gyomelnyomó hatása azért jelentős, mert az eddigi kémiai, agrotechnikai, mechanikai módszerek mellett vegyszermentes, energiatakarékos biológiai védekezési lehetőséget jelent. Az alakor tehát nem csak az ökológiai gazdálkodásban, hanem a parlagfű elleni harcban is ígéretes, új genetikai erőforrás.

Célkitűzés: Az alakor parlagfű és általában gyomelnyomó képességének vizsgálata szabadföldi kísérletekben tömegszázalékos elemzés, borítási százalékos elemzés, transzsektelemzés segítségével, valamint laboratóriumi csíráztatási kísérletekben.

Alkalmazott módszerek: Szabadföldön transzsektelemzést az időeltolódás kísérleti téren, tömegszázalékos fajösszetételt az 1. kísérleti téren, és borítási százalékos fajösszetételt az, 2., 3. kísérleti tereken végeztünk. Mind a négy területen külön-külön vizsgáltuk a bevetetlen és az alakorral bevetett részeket, mértünk összes gyom, és összes parlagfű mennyiségét. Az állományokban fényintenzitást is mértünk. Laboratóriumban csíráztatási kísérletet végeztünk alakor gyökér, levél és szár oldatokon lúdfű és parlagfű magvakkal, kontrollként vizet használtunk.

Eredmények: Mindhárom szabadföldi módszer mutatja, hogy az alakorral bevetett területeken jelentősen csökken a gyomfertőzöttség a bevetetlen területekhez képest. Parlagfűre vizsgálva is jelentős – esetenként 100%-os – zöldtömeg és méretbeli csökkenés észlelhető. Aratás után, a szeptemberi felvételezések során még mindig észlelhető volt a gyomtömeg eltérés a bevetett és bevetetlen területek között. Laboratóriumi kísérletek az alakor csírázásgátló hatását bizonyították. Az eredményeket táblázatosan feldolgoztuk és statisztikailag kiértékeljük.

Következtetés: Laboratóriumi és szabadföldi kísérleteink eredményei mutatják, hogy az alakornak erős allelopatikus hatása van, mely a vegetációs időszaka után is érvényesül.

NÖVET-2

Herbicidek által okozott környezetszennyezés hatásai növényi életfolyamatokra

Csorba Kinga, Varga Zoltán
 IV. évf. biológia, III. évf. környezetföldrajz-környezettudomány
 BBTE, Kísérleti Biológia Tanszék
 témavezető: Dr. Fodorpatáki László

Az intenzív növénytermesztés nem nélkülözheti a gyomirtó szerek alkalmazását, ezek mértéktelen használata azonban a talaj és a vizek szennyezését okozza. Az édesvízi zöldalgák jó indikátorai a vízminőségnek, ezért választottuk alanyaivá e vizsgálatoknak, amelyek célja a vizekben felgyűlő herbicidek élettani hatásainak kimutatása. A kísérletek steril tápoldatban nevelt monoalgális tenyészetekkel történtek, melyek vizébe $50 \mu\text{M}$ paraquatot, $50 \mu\text{M}$ diuront, illetve 10 mg l^{-1} 2,4-D-t juttattunk. E herbicidek hatását vizsgáltuk az algapopulációk sejtsűrűségének időbeni változására, az algasejtek a- és b-klorofill tartalmára és szerkezeti jellemzőire, valamint az algatenyészetek biomassza-termelésére. Párhuzamosan kukorica és árpa magjainak csírázási dinamikáját is vizsgáltuk a fenti herbicideket tartalmazó vízzel történő öntözés során. A növekedési és fotoszintetikus folyamatokat leginkább a paraquat gátolta, a 2,4-D pedig az alkalmazott koncentrációban serkentette az algasejtek osztódását.

NÖVET-3

A NO keletkezése *Pisum sativum* és *Triticum aestivum* növények gyökerében ozmotikus stressz alatt

Kolbert Zsuzsanna
 V. évf. biológus
 SZTE TTK Növényélettani Tanszék
 témavezető: Dr. Erdei László

TDK dolgozatom keretében *Pisum sativum* és *Triticum aestivum* növények gyökerében vizsgáltam a NO keletkezését, annak koncentráció- és időfüggését, szövetspecifikus megjelenését, s a nitrát redukáz enzim (NR) aktivitását ozmotikus stressz hatására.

Folyékony tápoldatban, kontrolált körülmények között nevelt 2 hetes *Pisum sativum* (Rajnai törpe) és *Triticum aestivum* (Óthalom) növényeket polietilén glikollal (PEG 6000) előidézett ozmotikus stressznek tettem ki, amely körülmény a szárazságstressz modellezésére szolgál. A NO keletkezését gyökér szegmensenként NO-szenzitív fluoreszcens festékkel (diaminofluorescein-diacetát, DAF-2DA) mutattam ki, s Zeiss Axiovert 200M típusú fluoreszcens mikroszkóppal detektáltam. A NR aktivitását in vivo mértem.

Eredményként elmondható, hogy a NO felszabadulása koncentrációfüggő a gyökérben, mindkét növény esetében növekvő ozmolaritású PEG kezelés növekvő NO tartalmat eredményez. A borsó és a búza esetében is a kezelés előtti alacsonyabb NO szint PEG kezelés hatására jelentősen megnövekedett. A NO szövetspecifikusan termelődik mindkét növényben: borsó gyökérkeresztmetszetekben látható, hogy a központi henger sejteiben legmagasabb a NO tartalom, a kortexben a legalacsonyabb. A búza szárkeresztmetszetek epidermális sejteiben alacsony a NO tartalom, míg a szállítóyalábokban jelentős. Mindkét növény szárában a szállítóyalábok NO tartalma a kontrol esetében is magas, s növekvő PEG koncentrációk hatására nő a szállítóyalábok NO tartalma.

Vizsgálataim eredményeim azt mutatják, hogy mivel a NO keletkezése a stresszor növekvő intenzitására emelkedik, a NO a vizsgált növényekben ozmotikus (szárazság) stressz alatt részt vesz a stresszválasz (aklimatizáció) kialakításában. További eredményeim szerint elmondható, hogy a NO szövet- és fajspecifikusan jelenik meg az egyes gyökér- és szárrészekben. A nitrát redukáz enzim aktivitása PEG kezelés hatására jelentősen megnövekedett csakúgy, mint a NO tartalom, ami arra utal, hogy ez az enzim lehet a NO egyik forrása a gyökérben ozmotikus stressz alatt.

NÖVET-4

A monomer protoklorofillid formák szerepe a zöldülésben. Natív szerkezet, aggregáció és fotokémiai aktivitás vizsgálata *in vivo* és *in vitro*

Kósa Annamária
V. évf. biológus
ELTE TTK Növény szerkezettani Tanszék
témavezető: Dr. Böddi Béla

A klorofill bioszintézis kulcslépése a NADPH: protoklorofillid oxidoreduktáz (POR, EC 1.3.1.33) enzim által katalizált, zárwatermőkben csak fény hatására végbemenő protoklorofillid → klorofillid átalakulás. Az aktív enzim protoklorofilliddel és NADPH-val hármas komplexeket alkot, amelyek monomer, dimer vagy oligomer állapotban fordulnak elő. Levelek etioplasztiszaiban az oligomer, szárazkéiben a monomer protoklorofillid formák vannak túlsúlyban. A főleg leveleken végzett kutatások megállapították, hogy az aggregált hármas komplexek flash-fotoaktívak, vagyis ms-os megvilágításra a protoklorofillid klorofilliddé redukálódik bennük. A monomer pigmentet tartalmazó protoklorofillid formák ilyen átalakulását nem írták le.

Kísérleteinket etiolált borsó (*Pisum sativum* L.) csíranövények epikotilján, hajtástenyészetben és búzalevélen (*Triticum aestivum* L.) végeztük. 77 K fluoreszcencia spektroszkópiát, elektronmikroszkópiát, *in vitro* fehérje aggregáló közegét és szervtenyésztési eljárásokat alkalmaztunk. A mintákban található protoklorofillid komplexek fotoaktivitását fehér és 632.8 nm-es lézer megvilágítással tanulmányoztuk.

Kimutattuk, hogy a borsó epikotiljában jelenlévő két különböző szerkezetű, monomer protoklorofillidet tartalmazó komplex közül az egyik flash-fotoaktív, amely mesterséges közegben flash-fotoaktív oligomerré aggregálható. A másik formában a protoklorofillid nem kötődik POR enzimhez, de a többi forma fotoredukciója után - a POR enzimek szabaddá váló aktív központjába lépve - a hármas komplexeket regenerálja azok aggregációs állapotától függetlenül. Lézer megvilágítással etiolált levelekben is sikerült a monomer POR hármas komplexekben a protoklorofillidet szelektíven klorofilliddé alakítani. Eredményeink alapján az eddig leírt protoklorofillid klorofillid reakciósémák új átalakulási útvonalakkal egészíthetők ki.

Ismert olyan irodalmi adat, hogy levelek etioplasztiszaiban citokinin hatására nő a prolamelláris testek mérete és bennük az oligomer protoklorofillid komplexek mennyisége. Hajtástenyészetben vizsgáltuk a citokinin hatását etiolált borsószárra. A szárazra általánosan jellemző fejletlen etioplasztiszok helyett a levelekéhez hasonló struktúrákat és a flash-fotoaktív oligomer protoklorofillid komplexek mennyiségének növekedését figyeltük meg. Eredményeink bizonyítják, hogy az etioplasztiszok szervspecifikus differenciálódási folyamatait, és így a klorofill bioszintézis útjai módosíthatók.

NÖVET-5

A foszfonometil-szarkozin a víz- és ionegyensúly helyreállításával véd a Cu és Cd okozta fotoszintézisgátlás ellen

Kovács Sándor
V. évf. biológus
ELTE TTK Növényélettani Tanszék
témavezető: Dr. Sárvári Éva

Az utóbbi évtizedekben a városi közlekedés, valamint egyes ipari és mezőgazdasági technikák nagymértékben megnövelték a toxikus nehézfémek koncentrációját a levegőben és a talajban. E fémek bioakkumulációja komoly veszélyt jelent minden élőlény, köztük a növények számára is. Az egyes növényekben stresszhatásra termelődő, a sejtműködés szempontjából kompatibilis glicin-betain több különböző stressz esetén, illetve exogén és endogén formában is védő hatásúnak bizonyult, hatásmechanizmusa azonban vitatott. Mi a foszfonometil-szarkozin (FMSz) hatását vizsgáltuk, ami a glicinből N-metilációval történő glicin-betain bioszintézis intermediérének, a dimetil-glicinnek foszforilált származéka, s a növekedési előkísérletekben Cu-stressz ellen nagyon hatékony volt. Azért, hogy felmérjük az FMSz védő hatását és annak okait FMSz-nal (100 μM) együtt vagy anélkül tápoldatban adott Cu (10 μM CuSO₄ - Cu10) és Cd (1 és 10 μM Cd(NO₃)₂ - Cd1 és Cd10) hatását vizsgáltuk négyleveles kortól 2 hétig kezelt lágycukor (*Cucumis sativus*) és fűszárú (*Populus alba*) növények fotoszintézisére. Az FMSz megszüntette a Cu10, de nem a Cd10 okozta növekedéscsökkenést, ami a Cu és Cd okozta növekedésgátlás mechanizmusának különbözőségére utal. A klorofill (Chl) tartalom a levélméret redukciójával arányosan (Cu10, Cd1), illetve erősebben (Cd10) csökkent. A Chl-protein mintázatban egységnyi felületű levélanyagra számolva a fotoszisztéma II (PSII) „core” stimulációja (Cu10, Cd1), illetve a PSI-hez és a fénygyűjtő komplexhez (LHCII) képest nagyobb stabilitása (Cd10) volt megfigyelhető. Ugyanakkor, a Cu10 és Cd10 kezelés következtében csökkent a PSII aktuális hatékonysága és a CO₂ fixációs képesség. Nyárnál a Cu10 kezelés a Fe, Mn, K, Ca egységnyi felületű levélanyagra számolt mennyiségét a kontroll 15-25%-ára csökkentette, míg a Cd10 elsősorban a Fe (40%-ra) és kisebb mértékben a Mn és Ca mennyiségét (70%-ra) redukálta. A Cu és Cd fotoszintézisgátlásának fő oka a víz- és elemhiány (a vízháztartás szempontjából a K hiány), illetve az elemegyensúly megbomlása (elsősorban Fe-hiány) volt. Az FMSz csökkentette a gyökér Cu tartalmát, a Cd-ét azonban nem, és teljesen (Cu10), illetve nagyrészt (Cd10) helyreállította a víz- és ionháztartást, aminek következtében a fotoszintetikus apparátus működése és struktúrája is teljesen, illetve nagyrészt helyreállt. Az FMSz minden fotoszintetikus paraméter és a víz- és ionháztartás helyreállítása tekintetében is a Cu10, illetve a nyár esetében volt hatékonyabb.

NÖVET-6

Óbuda paprika vírus (ObPV) hatásának citológiai vizsgálata dohánynövényen, atipikus inkompatibilis kapcsolat esetén

Lózsza Rita

V. évf. biológus

ELTE TTK Növény szerzettani Tanszék, MTA Növényvédelmi Kutatóintézet
Virologia Csoport

témavezető: Dr. Bóka Károly, Dr. Almási Asztéria

A rezisztens dohányfajták (*Nicotiana tabacum* cv. Xanthi nc, *N. tabacum* cv. Burley NN, *N. tabacum* cv. Samsun NN), az összes ismert tobamovírussal szemben, meghatározott körülmények között, lokális léziók kialakulásával válaszolnak (hiperszenzitív reakció, HR), melyet nem követ a vírus szisztemizálódása. Ez alól, eddigi ismereteink szerint, egyetlen kivétel van, a magyar kutatók által leírt Óbuda paprika vírus (*Obuda Pepper Virus*, ObPV), mely ugyanezekben a gazdanövényeken kezdetben HR-t indukál, később mégis szisztemizálódik. A HR kialakulásáért dohányban a domináns N-gén felelős, mely a tobamovírusok ORF1-ről átíródó 126 kDa-os fehérje helikáz doménjével kölcsönhatva alakítja ki a HR-t. A N gén hőmérsékletfüggő, inaktív válik 28°C fölött. Ha a fertőzött növényeket ennél magasabb hőmérsékleten tartjuk, a vírus elterjed. Visszatéve a rezisztens növényeket 28°C alá, a fertőzött sejtekben a HR – az irodalmi adatok szerint - szinkronizáltnan zajlik le (temperature shift, TS).

A HR kialakulásakor bekövetkező sejttani változások nagyvonalakban ismertek, a lokális léziók körül kialakuló szimptomákat a '60-as években leírták. A mechanikai inokulálás miatt azonban a nekrotizisok megjelenése esetleges, így a HR korai lépéseit nem követhették. Az ép szövet és a lézió közti sáv az irodalom szerint csupán 2-3 sejtsor, vizsgálataink azonban ezt az ObPV fertőzött növényeken nem erősítik meg. A TS-el végzett kísérleteink arra utalnak, hogy a HR csak a fertőzött és az ép szövet közti határon fejlődik ki, tehát nem minden fertőzött sejtben. Eredményeink azt mutatják, hogy a szisztemikus szignál előbb éri el a nem inokulált sejteket, mint a vírus maga, és ez a sejtek szerkezetének megváltozásához vezet.

A továbbiakban összehasonlító kísérleteket tervezünk a TMV U1 HR-t okozó, de nem szisztemizáló törzsével, tervezzük a mikrotubuláris rendszer átrendeződésének megfigyelését, valamint a még nem fertőzött sejtek, növényi részek állapotának élettani jellemzését.

Mivel a HR fontos eleme az ún. szántóföldi rezisztenciának, a kapott eredmények jelentősége a gyakorlati növénygazdálkodásban kiemelt.

NÖVET-7

Oxidatív stressz csökkentő gyógynövények *in vitro* vizsgálata

Sostarity Klaudia

V. évf. biológus

SZTE TTK Genetikai és Molekuláris Biológiai Tanszék

témavezető: Szöllősiné Dr. Varga Ilona

A dolgozatban Magyarországon és Vajdaságban gyűjtött *Crataegus monogyna* L., *Ginkgo biloba* L. és *Urtica dioica* L. szárított mintáit hasonlítjuk össze oxidatív stresszt csökkentő hatásuk alapján.

A molekuláris oxigénből fiziológias folyamatok során folyamatosan keletkeznek szabadgyökök (szuperoxid-, hidroxil-, peroxigyökök). – E folyamatokat szabályozó mechanizmusok sérülése esetén patológiás szabadgyök reakciók jönnek létre. A sejtekben megtalálható biomolekulák - mint a DNS, fehérjék, lipidek - oxidatív károsodást szenvednek, így számos betegség kialakulását eredményezhetik. A prevencióban jelentős szereppel bírnak a növényi eredetű antioxidánsok. Korábbi vizsgálatokból tudjuk, hogy a termőhelyi adottságok és az éghajlati viszonyok befolyásolhatják az antioxidáns hatást.

Munkánk során azt kívántuk meghatározni, hogy a választott gyógynövény kivonatok képesek-e csökkenteni az agyhomogenizátumon kiváltott oxidatív stresszt. Ha igen, igazolja az antioxidáns hatású növényi készítmények egyre növekvő szerepét a fitoterápiában.

Továbbá kíváncsiak voltunk, hogy a különböző földrajzi területről (Szeged és környéke, valamint Újvidék és környéke) származó növények kivonatai hatásukban azonosak-e?

Fenton-reakcióval ($Fe^{2+} - H_2O_2$) oxidatív stresszt hoztunk létre agyhomogenizátumon, s a választott növények kivonatait hozzáadva vizsgáltuk az oxidatív stresszt csökkentő hatásukat. Ehhez meghatároztuk a lipidperoxidáció (LP) mértékét a malondialdehid koncentráció alapján, a fehérjék károsodását jelző karbonil protein szintet, valamint megmértük a kivonatok polifenol tartalmát és össz antioxidáns kapacitását.

A *Crataegus* mindkét helyről származó alkoholos kivonatai koncentráció függő mértékben csökkentik a LP-t, bár jelentős eltérés van a minták össz antioxidáns aktivitása (FRAP) és polifenol tartalma között. A magyarországi *Urtica* és a vajdasági *Ginkgo* extraktumok a karbonil protein szintet és a LP-t koncentráció függően csökkentik, míg a magyarországi *Ginkgo* LP csökkentő hatása szerény.

A vizsgált növényi kivonatok oxidatív stresszt csökkentő hatásuknál fogva kiegészítő fitoterápiában hatékonyan alkalmazhatók, függetlenül a termőhelytől.

NÖVÉT-8

A sejtek életképességének tanulmányozása fluoreszkáló festékekkel hagyma (*Allium cepa* L.) allelél epidermisz-sejtekben

Szabó Milán
V. évf. biológus
SZTE TTK Növénytani Tanszék
témavezető: Dr. Laskay Gábor

A fluoreszkáló festékek és a különféle fluoreszcenciás módszerek jelentősége a különböző sejtbiológiai és molekuláris biológiai vizsgálatokban az utóbbi években jelentősen felértékelődött, elsősorban a módszer könnyű felhasználhatósága, igen nagy szelektivitása és érzékenysége miatt. Állati sejtek esetében tekintélyes mennyiségű fluoreszcens festékeken alapuló vizsgálati eredmény áll rendelkezésre, ez azonban kevésbé igaz növénysejtekre, ahol ezek a módszerek még jóval kevésbé terjedtek el.

A sejtek életképességének tanulmányozása meglehetősen nehéz feladat és csak kevés igazán megbízható módszer áll rendelkezésünkre. Munkám során egyrészt arra kerestem a választ, hogy az állati sejtekben sokszor rutinszerűen alkalmazott fluoreszkáló festékek alkalmasak-e a növénysejtek egyes lényeges sejtbiológiai paramétereinek tanulmányozására, másrészt, hogy e módszerekkel kimutathatóak-e a sejtek életképességét befolyásoló anyagok és körülmények (mitokondriális légzési lánc gátlószerek és szétkapcsolók, redoxi aktív anyagok, extracelluláris elektron-akceptorok, az extracelluláris pH megváltozása) okozta, esetlegesen patológiás változások, hogyan változik meg a sejtek életképessége, illetve hogy a kezelések hatása mennyire tartós és a növénysejtek mutatnak-e valamilyen regenerációs képességet.

A kísérletek során fluoreszcens mikroszkóppal megvizsgáltam a kezelt és kezeletlen sejtekben a nyugalmi membránpotenciál változását DiOC₅(3) karbocianin festékkel, reaktív oxigénfajta képződését H₂DCFDA festékkel, és alkalmaztam egy, az állati sejtekben a sejtek életképességét vizsgáló fluoreszkáló festéket, a Calcein AM-t. A kapott fluoreszcencia intenzitás értékek alapján kidolgoztam egy, a kezelések okozta változásokat jól reprezentáló indexet. Megállapítottam, hogy az alkalmazott fluoreszkáló festékek érzékenyen követik a sejtéletképességi paraméterek megváltozását, így azok megalapozzák egy újszerű, kvantitatív sejt-vitalitási tesztrendszer kidolgozásának lehetőségét.

NÖVÉT-9

A redoxi-homeosztázis megváltozásának hatása a citoplazmikus Ca²⁺ koncentrációra hagyma (*Allium cepa* L.) allelél epidermisz-sejteken

Szabó Mónika
III.évf. biológus
SZTE TTK Növénytani Tanszék
témavezető: Dr. Laskay Gábor

Vizsgálataim során két kérdésre kerestem a választ:

1/ az állati sejtek esetében már rutinszerűen használt fluoreszkáló festékek (pl. Fluo-3 AM) növényi sejteknél is alkalmazhatók-e, illetve segítségükkel nyomon követhető-e a citoplazmikus Ca²⁺ koncentráció ([Ca²⁺]_i) megváltozása.

2/ a [Ca²⁺]_i alakulása a redoxi-homeosztázis megváltozásának (redoxi-aktív anyagok) hatására.

Köztudott, hogy a növényi sejtekben a jelátviteli útban szereplő legfontosabb másodlagos hírvivő a Ca²⁺. Környezeti jelek hatására Ca²⁺-csatornák nyílhatnak ki, és a citoplazmába áramló Ca²⁺ ionok szignálként hatnak a sejtre. Jelen tudásunk szerint ez nagyon fontos eseménysorozat a sejtben, de a lejátszódó szabályozó mechanizmusok pontos hátterét még nem ismerjük. Nagyon kevés irodalmi adat áll rendelkezésünkre erre vonatkozóan, az irodalom alapos áttanulmányozása után úgy gondolom, hogy ilyen jellegű kísérleteket még nem végeztek. Ezért tűztem ki dolgozatomban ennek a problémának a tanulmányozását.

A vizsgálatokat hagyma (*Allium cepa* L.) allelél epidermisz-sejteken végeztem, Fluo-3 AM fluoreszcens festékkel. Ezek a sejtek nem tartalmazzak kloroplasztiszokat, így a klorofillok fluoreszcenciája nem zavarta a méréseket. A módszer gyorsnak, megbízhatónak és könnyen alkalmazhatónak bizonyult, véleményem szerint a fluoreszcens technika növényi sejtek esetében is biztonsággal alkalmazható, mert igen szelektív és rendkívül érzékeny.

Eddigi kísérleteim során az alábbi hatóanyagokat, ill. körülményeket vizsgáltam meg: 1. Kálium-ferricianid: külső elektron akceptor, amely a sejt redoxi állapotát oxidációs irányba tolja el, ennek következményeként reaktív oxigénfajta keletkeznek – rövid távon igen jelentős spike-ot okozott, hosszú távon csökkentette a [Ca²⁺]_i-t. 2. Hidrogén-peroxid: intracelluláris oxidálószer – rövid távú hatása nem egyértelmű, de hosszú távon csökkentette a [Ca²⁺]_i-t. 3. Parakvát (metil-viologén): intracelluláris oxidálószer, de hatását eddig csak kloroplasztisszal rendelkező növénysejtekben és állati sejtekben írták le – rövid és hosszú távon egyaránt csökkentette a [Ca²⁺]_i-t. 4. 2,4-Dinitrofenol: mitokondriális légzési lánc szétkapcsoló szere, amelynek vizsgálata azért érdekes, mert a csökkent ATP képződés megnyilvánul abban is, hogy a sejt nem képes fenntartani a citoplazmikus ionösszetételt – a rövid távú mérések még folyamatban vannak, de hosszú távon csökkentette a [Ca²⁺]_i-t. 5. Kálium-cianid: a citokróm-oxidáz gátlószere, gátolja az oxidatív foszforilációt, így csökkenti az ATP-szintet a sejtben – rövid távon igen látványos és szignifikáns spike-ot okozott, és hosszú távon is növelte [Ca²⁺]_i-t. 6. Extracelluláris pH hatása – mind a pH_o=5, mind a pH_o=9 közeg csökkentette a [Ca²⁺]_i-t, a pH_o=5 közegben spike-ot figyeltem meg.

A továbbiakban tervezem a kísérletek folytatását, mert még így is nagyon keveset tudunk a Ca²⁺ szerepéről növénysejtekben. Úgy érzem, eredményeim újak, és hozzájárulnak jelenlegi tudásunk gyarapításához.

NÖVET-10

Plasztisz-differenciálódás burgonya (*Solanum tuberosum* L.) természetes és *in vitro* gumójában és szárában

Szenzenstein Andrea
V. évf. biológus
ELTE TTK Növény szerkezet-tani Tanszék
témavezető: Dr. Böddi Béla

A Solanaceae családba tartozó növényekben általánosak a mérgező hatású anyagok, ismert például a burgonya gumó zöldülésekor keletkező α -szolanin és α -chaconin mérgező hatása. A zöldülés folyamata követhető a protoklorofillid (Pklid) – klorofillid (Klid) – klorofill (Kl) átalakulás egyes lépéseinek és a plasztisz-differenciálódásnak a vizsgálatával.

Munkánkban termesztett és *in vitro* kultúrában nevelt, sötétben és fényen tartott burgonya gumókat és belőlük fejlődött hajtásokat tanulmányoztunk. Fluoreszcencia spektroszkópiai és elektronmikroszkópos módszereket használtunk.

Megállapítottuk, hogy a nem zöld, illetve a hosszú ideig sötétben tartott gumókban csak Pklid és proto-klorofill (Pkl) található, amelyek mennyisége a periderma alatt a legmagasabb, a gumó belseje felé csökken. Ezekben a rétegekben csak amilo- és proplasztiszok találhatóak. A sötétben fejlődött fiatal szárakra is ez volt jellemző, de idősödésük során a pigment-tartalmuk csökkent. A sötétben tartott, majd fényre tett, illetve folyamatosan fényen tartott gumók peridermája alatti 1-3 mm-es rétegben jelentős mennyiségű Kl halmozódott fel, ami a levelekben megtalálható Kl-protein komplex kialakulását eredményezte. *In vitro*, sötétben tartott tenyészetekben hónaljgyűből hajtást, azon pedig csúcsi és laterális helyzetű mikrogumókat neveltünk. A megvilágított mikrogumókban egy hét alatt a zöld levelekre jellemző Kl-protein komplexek jelentek meg. Az etiolált mikrogumókban proplasztiszok és protilakoidokban gazdag etioplasztiszok voltak. A megvilágított mintákban gránumos tilakoidokat tartalmazó kloroplasztiszok alakultak ki. Ezekben a mintákban a proplasztisz – amiloplasztisz – etioplasztisz – kloroplasztisz átalakulásokat figyeltük meg.

A gumóban, mint módosult szárban, a szárakra általánosan jellemző lassú, órás időtartamban végbemenő Kl bioszintézis játszódik le. A Kl jelzi a mérgező glikoalkaloidok jelenlétét, ezért a zöld gumók vizsgálatával kapott eredmények élelmezési szempontból is fontosak.

NÖVET-11

Különböző *Fusarium* fajokkal szembeni általános rezisztencia búzában

Tóth Kinga
V. évf. biológus
SZTE TTK, Gabonatermesztési Kutató
témavezető: Dr. Mesterházy Ákos

A *Fusarium* fajok a búza egyik legfontosabb betegségének, a kalászfuzáriumnak a kórokozói, évről-évre –világszerte– súlyos járványokat tudnak okozni. Ezért fontos a *Fusarium* fajokkal szemben ellenálló búzafajták nemesítése. A feladatot leegyszerűsíthetné, ha bebizonyosodnék az felvetés, miszerint a búzában az egyes *Fusarium* fajokkal szembeni rezisztencia általános, azaz, ha egy genotípus ellenálló, pl. a *F. graminearum*mal szemben, akkor ez a rezisztencia a többi *Fusarium* fajjal szemben is védettséget biztosít.

Az általános rezisztencia létezését vizsgáló kutatóprogram indult 1998-ban, mely során több búzagenotípus reakcióját figyeltük különböző *Fusarium* fajokkal való mesterséges fertőzés után. A fertőzés szántóföldi körülmények között történt, 1998-99-ben 16, 2000-ben 13, 2001-2002-ben 26, 2003-ban pedig 18 genotípust használva. A kalászfertőzöttség (FHB) adatai mellett vizsgáltuk a szemfertőzöttséget (FDK), a termés-csökkenést és a toxin-szennyezettséget is. A toxinok közül a deoxinivalenol (DON) koncentrációját mértük HPLC segítségével. Az egyes genotípusok rezisztenciaválaszai nagyon hasonlóak voltak, ami az általános rezisztencia jelenlétére utalt. Az FHB, FDK, a termésveszteség és a toxin-felhalmozás között szoros kapcsolat volt, és sikerült rezisztenciakomponenseket azonosítani. Tapasztaltunk magas kalászfertőzöttséget és szemfertőzöttséget egyaránt, de ami a nemesítés szempontjából fontos, hogy egyes esetekben alacsony kalászfertőzöttség mellett, kiugróan magas szemfertőzöttséget mértünk. Megfigyeltünk extrém magas DON-termelésű genotípust is, különösen a nyugat-európai genotípusok fertőzésekor, ahol a DON koncentrációja akár többszöröse is volt, az ugyanolyan szemfertőzöttséget mutató hazai fajtáénál. A kísérlet során talákoztunk a toleranciával is, mint a rezisztencia egyik komponensével, de olyan is előfordult, hogy adott fajtának aránytalanul magas termésvesztesége volt.

Nagyon fontos, hogy az FDK-t, az FHB-t, a termésveszteséget és a DON-termelését egyszerre tanulmányozzuk, mert így alaposabban megismerjük a búza *Fusarium*mal szembeni ellenállóságának természetét, további rezisztenciakomponenseket azonosíthatunk, így megkönnyítve a nemesítési munkálatokat.

A hatéves vizsgálatsorozat alapján megállapítottuk, hogy a különböző *Fusarium* fajokkal szembeni ellenállóság alapja azonos, azaz a növény nem tud különbséget tenni az egyes fajok között, az ellenállóság vagy fogékonyság mindegyikre érvényes.

NÖVET-12

Az almamag bioaktív anyagai

Varga Ágnes

IV. évf. gyógyszerész

PTE TTK Növényteni Tanszék

témavezető: Dr. Szabó László Gy.

A vizsgálataink tárgyát képező nemes alma (*Malus domestica* L.) a legnépszerűbb gyümölcsök egyike, amit főleg gyógyhatásának tulajdoníthatunk: vitaminokat, nyomelemeket és ásványi anyagokat tartalmaz, magas a rost- és víztartalma, illetve sejtfalának pektintartalma is jelentős.

A gyümölcshús mellett a héjnak, illetve a magoknak is szerepük van a jótékony hatások kialakításában. Felhasználható vércukorszint emelésére, hashajtóként; vér-, máj- és vesetisztítóként, illetve emésztést serkentő hatással is rendelkezik.

Vizsgálataink során négy almafajta – *Granny Smith*, *Starking*, *Golden Star* és *Idared* – magjaiból mutattuk ki a következő három anyagcsoportba tartozó vegyületeket:

- a) kalkanok,
- b) flavonoidok,
- c) cianogén –glikozidok.

A hatóanyagok kvalitatív kimutatását vékonyréteg-kromatográfiával végeztük, a kvantitatív kiértékeléshez denzitometriás módszert használtunk. A kutatómunka fontos részét képezte a kivonási, mintafelviteli, illetve kifejlesztési eljárások optimalizálása.

A kalkan típusú vegyületek közül az izoliquiritigenin, naringenin és a floretin tesztjét vittük fel a rétegre. Ezek közül számottevő mennyiségben szinte csak a floretin fordult elő az almamag mintákban, kivéve a *Granny Smith* esetében, ahol a felvitt minta mennyiségét 1,5-2-szeresére növelve sem volt kimutatható. A legkisebb mennyiséget a *Golden Star* magjaiban mértük, a legtöbbet pedig a *Starking*nál.

Mintáink flavonoid tartalmát kvercetin, kempferol, klorogénsav, luteolin, apigenin, rutin és hiperozid tesztekkel hasonlítottuk össze. Ezek közül csak a klorogénsavat sikerült azonosítani mind a négy mintában. A legkevesebbet tartalmazó *Granny Smith*-hez képest közel kétszeres mennyiséget mutattunk ki a *Starking* magjaiból. A kromatogramok alapján mintáink egyéb, egyelőre nem azonosított flavonoidokat is tartalmaznak.

A cianogén-glikozidok csoportjába tartozó amigdalint vizsgálva szintén mind a négy fajtánál pozitív eredményt kaptunk. A *Granny Smith* mintájában volt a legnagyobb az amigdalinnal való mennyisége, a *Starking*ban pedig a legkevesebb.

Az egyes anyagcsoportok szerepét a növény védekező képességében még nem ismerjük kellőképpen, de vizsgálataink azt bizonyítják, hogy előnyös lehet a teljes, magokat is tartalmazó almatermés fogyasztása, mivel az emberi szervezet számára kedvező összetételben tartalmazza a vizsgált, értékes hatóanyagokat. Megfontolandó lehet az iparban melléktermékként visszamaradó almamag további feldolgozása vagy a teljes alma feldolgozott formában való értékesítése.

NÖVET-13

A *Mimosa pudica* mechanoreceptora és annak működése anatómiai és elektrofiziológiai vizsgálatok tükrében

Visnovitz Tamás

IV. évf. biológus

ELTE TTK, Növény szervezettani Tanszék¹, Élettani és Neurobiológiai Tanszék²

témavezetők: Dr. Kristóf Zoltán, Dr. Világi Ildikó

Ahogy arról a 2003. évi OTDK-n beszámoltunk, a *Mimosa pudica* terciér pulvinusának adaxiális oldalán ismeretlen funkciójú vörös színű sejtek találhatóak. A vizsgálatok valószínűsítették, hogy ezek módosult sztóma melléksejtek. Hisztokémiai és direkt ingerlésen alapuló kísérleteink alapján is feltételeztük, hogy a vörös sejteknek mechanoreceptor funkciója lehet, bár akkor még konkrét, fiziológiai bizonyítékunk nem volt. A mimóza mechanoreceptor sejtjeit eddig még senki sem írta le. (Shimmen, 2001)

Az elmúlt másfél év eredményeként megismertük a feltételezett receptor sejtek differenciációját, a plazma membránján bekövetkező potenciál változásokat és folytatva az elektronmikroszkópos vizsgálatokat, feltártuk a módosult gázcsere nyílás komplexum és a motorsejtek anatómiai kapcsolatait.

Elektrofiziológiai vizsgálataink eredményeképpen a vörös sejtekben olyan akciós potenciált mértünk, mely alkalmas a motorsejtek működésének iniciálására. A mechanikai ingerlést követően a membrán hiper- majd depolarizálódott. A hiperpolarizáció a motorsejteken lehetővé teszi az extracelluláris térből a Ca^{2+} ionok beáramlását, ami triggereli a Ca^{2+} felszabadulását a belső raktárakból. A Ca^{2+} megfelelő szignalizációs útvonalakon keresztül elősegíti a motoros sejtek membránjának depolarizációját. A plazmamembrán depolarizációja kiáramlást K^{+} csatornákat nyit. A K^{+} kiáramlik a sejtéből, és aquaporinokon keresztül a víz követi. A vízvesztés a levelek záródásához vezet.

A fiziológiai és az anatómiai vizsgálatok igazolták, hogy a terciér pulvinuson felfedezett sejtek betölthetik a mechanoreceptor szerepét. Mechanikai ingerlést követően akciós potenciált generálnak, és ez el is juthat a motorsejtekhez a plazmodezmás kapcsolatok révén.

Irodalmi ismeretek alapján elkészítettük a receptor sejtek lehetséges működési modelljét. A modell megalkotásánál sokat segített az az egyre gyakrabban hangoztatott felismerés, hogy a mimóza motorsejtjei és a gázcsere nyílások zárósejtjei azonos elvek alapján működnek.

Terveink közt szerepel a működési modell biokémiai szintű tisztázása, a mechanikaitól eltérő szignálok érzékelésének vizsgálata, valamint újabb növényfajok kísérletekbe vonása.

NÖVÖKO-1

Növényzetborítás becslési módszerek összehasonlítása egy holtmeder példáján

Bodnár Réka, Varga Katalin

IV. évf. biológia-környezetan, V. biológus

DE TTK Hidrobiológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Dévai György, Dr. Tóthmérész Béla, Lukács Balázs András

Az EU direktíva értelmében a monitorozás célja a vizek természetességének megállapítása. A folyóvízi makrofitonokat kvalitatív és kvantitatív viszonyaik alapján közvetlen vízminősítési célra széles körben használják. Ennek oka abban keresendő, hogy kifejlődésüket és elterjedésüket elsősorban nem a víz tápanyagai, hanem a hidrológiai és fizikai tényezők határozzák meg. Ugyanakkor vízszennyezés jelzésére, monitorozás során az időbeli változások nyomon követésére nagyon jól felhasználhatók a fajok bioindikációs tulajdonságai.

Vizsgálataink célja egy módszertani tesztelés volt. A Boroszló-kerti Holt-Tisza makrofita vegetációját két szakasz térképezési és egy távérzékelési módszer segítségével mértük fel. Mennyiségi mutatóik alapján kiértékeljük és összehasonlítottuk a módszereket. A vízinövények jelenléte, vagy hiánya jól tükrözi a végbement változásokat, a módszerek összevetése pedig gyakorlati célokat szolgál.

A terepi vizsgálatok során adott szakaszon/kvadráton teljes fajlistát és gyakorisági becslést készítettünk. Mindkét esetben 1-5-ös gyakorisági becslést adtunk. Ezt követően a Kohler-Janauer (1995)-féle kiértékelésnek megfelelően relatív növény mennyiségi- (RPM) és középső mennyiségi (MMT) indexet számoltunk.

A háromtípusú becsléssel kapott eredményeket vetettük össze korreláció és regresszió elemzéssel. Vizsgáltuk, hogy az egyik típusú becsléssel kapott eredmények mennyire korrelálnak a másik típusú becslés eredményével. Az adatok statisztikai elemzését SPSS 11.5.0 programcsomag felhasználásával végeztük. A módszerek összehasonlításához korreláció, és lineáris regresszió analízist végeztünk. Az RPM-re és MMT-re kapott eredményeink alapján a két szakasz térképezési módszer azonos értékűként használható a vizsgált terület növényzetének becslésére ($r=0,551$ és $r=0,545$). A légifotós elemzés azonban ezektől teljesen elkülönült ($r=-0,36$ és $r=0,168$).

NÖVÖKO-2

A kocsánytalan tölgy és a csertölgy nedváramlásának és vízforgalmának jellemzői a Síkfőkúti kutatási területen

Elek László

V. évf. környezettudomány

DE TTK Növénytan Tanszék

témavezetők: Dr. Mészáros Ilona, Dr. Fenyvesi András

A Síkfőkút Projekt ILTER kutatási területen, egy 80-90 éves sarjeredetű cseres-tölgyes erdőállományban az Erdő és Klíma NKFP kutatási program keretében 2004 júliusában összehasonlító vízforgalmi és nedváramlási méréseket végeztünk kocsánytalan tölgy (*Quercus petraea*) és csertölgy (*Quercus cerris*) mintafákon.

A vizsgálatok eredményei alapján megállapítottuk, hogy fatörzsben a kitétségtől függően változik a nedváramlás intenzitása és napi fluktuációja. A *Quercus cerris* mintafán végzett méréseink során kimutattuk, hogy a nedváramlás intenzitása a törzs délnyugati oldalán kisebb volt, mint az északkeleti oldalon. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a nedváramlási változások összevetéséhez csak az azonos pozíciókban elhelyezett mérőhelyek adatai használhatóak fel megfelelően.

Mindkét faj mintafái esetében a fatörzs azonos kitétségű (DNy-i) oldalán mért nedváramlás intenzitása szoros összefüggést mutatott a levegő vízgőz-telítettségi hiányának (VPD) napi változásaival. A *Quercus petraea* esetében a VPD és a nedváramlás között a kapcsolat lényegesen szorosabb volt a vizsgálati időszakban, mint a *Quercus cerris* esetében. Hasonló eltérést mutatott a két faj a sztómakonduktancia és a VPD közötti összefüggés alapján is. A *Quercus cerris* esetében a mérési időszakban a levelekre mindig nagyobb víztelítettségi hiány, és alacsonyabb vízpotenciál volt jellemző, mint a *Quercus petraea* esetében. Mindkét fajnál megállapítottuk, hogy a nedváramlás növekedése szorosan együtt változott a levelek víztelítettségi hiányának az erősödésével, és a maximumát a késő délelőtti időszakra érte el. Az eredményeink arra mutatnak rá, hogy a két faj vízforgalmának a megismeréséhez, több paraméter párhuzamosan történő mérésére kiterjedő, komplex terepi kísérleteket szükséges tervezni.

NÖVÖKO-3

Levélnövekedési paraméterek változatossága cseres-tölgyes erdő lombkorona-szintjében a Síkfőkúti ILTER területen

Koncz Péter
IV. évf. biológus
DE TTK Növénytan Tanszék, Debrecen
témavezető: Dr. Mészáros Ilona

Az erdőállományok működésének az alapfeltételét jelentő szervesanyag-termelés nagyrészt a fák lombkoronájában megy végbe. A folyamat hatékonyságát és eredményeit számos környezeti és növényi tényező befolyásolja, többek között meghatározó szerepe van az asszimiláló lomblevelek terület- és tömegviszonyainak. A fák asszimiláló lomblevelei a fejlődésük során egy belsőleg és külsőleg meghatározott funkcionális morfológiai specializálódáson mennek át, folyamatosan fenn kell tartaniuk fiziológiai belső egyensúlyukat, térben és időben állandóan a külső környezeti tényezők fluktuációinak kell megfelelniük.

A diákköri munka keretében ennek az összetett rendszernek a jellemzéséhez kapcsolódtam, és vizsgálatokat kezdtem a síkfőkúti cseres-tölgyes erdő két domináns fafajánál (*Quercus petraea* és *Quercus cerris*) a levélméret és levélnövekedési paraméterek fény és mikroklímatis viszonyokkal összefüggő változatosságának feltárására.

A munka során nyomon követtük a fák fény- és árnyékszintjeiben a levelek fontosabb paramétereinek - levélfelület La (dm^2), levéltömeg Lw (g) -, a fitofágok által okozott rágási és levélvesztés százalékának, a levélnövekedési rátának a 2003 és 2004 évi vegetációs periódusokban bekövetkező változásait. A kapott eredményeket összehasonlítottuk a harminc évvel korábban (1973-1975 években), a kocsánytalan tölgypusztulást megelőző időszakban, mért adatokkal (Virágh 1985), és elemeztük az eltéréseket és okait. Ezen kívül az erdőállomány két fafajnál terepfelmérések során megállapítottuk a jelenlegi lombkorona-vetületüket (borításukat) és vizsgáltuk a korábbihoz képest történt változásait.

NÖVÖKO-4

Sztómaellenállás vizsgálat eltérő vízellátottságú balatoni nádállományokban

Körmöndi Mónika
IV. évf. agrármérnök
VE GMK Meteorológia és Vízgazdálkodás Tanszék
témavezetők: Dr. Anda Angéla, Boldizsár Anett

A Balaton vízháztartásának problémája az utóbbi években, hónapokban a megfigyelések középpontjába került. Az elmúlt időszakban a természetes vizek, így a Balaton vízszintje is erőteljesen lecsökkent, ami a környező élettér változását is előidézte. Vizsgálataink során arra a kérdésre kerestük a választ, hogy a tartós vízhiány hatására milyen változások alakulnak ki a tavak környéki természetes vegetációban. A nád kozmopolita növény lévén, nemcsak vizes helyen, hanem szárazabb szántóföldi területeken is megtalálható, így rendkívül alkalmas a fenti változások nyomon követésére.

A méréseket Keszthely - Fenépuszta között elhelyezkedő természetes nádállományban végeztük 2004 tenyészidőszakában. Célkitűzésünk az eltérő vízellátottságból fakadó sztóma aktivitási differencia minél pontosabb detektálása volt. A növényeket a vízszint magasságának és a vízborítottság mértékének különbségére adott válaszreakciók alapján vizsgáltuk. Fő mérési paraméterünk a sztóma ellenállás volt, amelynek megállapítására a tranzit-idő mérésén alapuló Delta T AP-4 típusú porométert alkalmaztuk. Méréseink során nemcsak a különböző vízellátásból eredő eltéréseket figyeltük meg, hanem jelentős hangsúlyt fektettünk az adott állományokon belüli egyes levélszinteken megjelenő sztóma aktivitás eltéréseire is. A sztómaellenállás mérésével párhuzamosan egyéb növényi paramétereket is regisztráltunk. A levélfelület-mérést LI-COR típusú planiméterrel végeztük, melynek segítségével az állományok közötti morfológiai különbségeket-habitus, borítottság- is vizsgálni tudtunk. A makroklímára vonatkozó adatokat Keszthely városától délre fekvő Agrometeorológiai Kutatóállomáson levő QLC 50-es típusú meteorológiai állomás szolgáltatta. A nedvességellátásból fakadó eltérések statisztikai vizsgálatát SPSS 9.0 (1998) statisztikai programcsomaggal, t-próbával végeztük. A statisztikai elemzés nem adott szignifikáns különbséget a vízkezelések között, az eltérés tendencia-jellegű.

Vizsgálatainkban arra a kérdésre kerestük a választ, hogy a környezet már viszonylag kis mértékű módosulása milyen mértékben befolyásolja a balatoni nádasokat. A vizes élőhelyek világszerte eltűnőben vannak. Természeti értékük ugyanakkor felbecsülhetetlen, ezért védelmük ma már kötelező feladat. A nádasok számos védett és fokozottan védett élőlénynek biztosítanak bűvő -és élőhelyet, így a természetes ökoszisztémában kialakuló változások beláthatatlan következményekkel járhatnak mind természetvédelmi, mind gazdasági szempontból.

NÖVÖKO-5

Vegetáció vizsgálatok a kömpöci mérőállomás környékén előforduló természetközeli növényállományokban és monokultúrákban

Maros Tünde
IV. évf. biológia-kémia
SZTE JGYTFK Biológia Tanszék
témavezető: Dr. Kincsek Irén

Dolgozatomban a kömpöci meteorológiai állomás környékének növényközösségein végzett kutatásaimról és annak eredményeiről számolok be.

2003-2004-ben a homok pusztai gyepeket (*Potentillo-Festucetum pseudovinae*; *Stipetosum subassotatioban*), az elgyomosodott zabtáblát és az akáccal szegélyezett földút melletti ruderalis növényközösségeket quadrat és line-transect módszerekkel vizsgáltam.

A diverzitás számolásához a Shannon-Wiener függvényt alkalmaztam. A cluster-analízis eredményét dendrogramokban ábrázoltam. Munkámhoz a SYN-TAX 2000 programcsomagot használtam.

Az út menti ruderalis elemek és az elgyomosodott zabtábla gyomnövény populációjának fajösszetétele heterogén volt. Ennek oka egyrészt az edafikus tényezőkben, másrészt a gyomfajok által jól tolerált csapadékhiányos időjárásban, valamint a kultúrfajok gyenge kompetíciós hatásában kereshető.

A majsai főcsatornához közeli területeken elterülő nyílt homokpusztai gyepek az erdősáv felé haladva egyre nagyobb diverzitást mutatnak és zavarást tűrő fajokban is gazdagabbak. Ennek egyik oka a gyakori legeltetés, a másik a környező területek gyomfajainak propagulum inváziója.

A kutatóházhoz legközelebb eső növénytakaró a legnagyobb fajgazdagságot mutatta értékes, védett elemeivel, melynek okára a terület körülkerítése ad magyarázatot.

A nyílt homokpusztai gyepek természetközeli növényközösségei miatt a területet indokoltnak tartom természetvédelmi raktalom alá helyezni. Javaslatunkra Kömpöc község önkormányzata kedvezően reagált.

Hosszabbtávú kutatásom célja a homoki gyepek populációinak további feltérképezésének folytatása, állományszerkezetének vizsgálata, valamint a propagulumok terjedési stratégiájának tanulmányozása.

NÖVÖKO-6

Trofikus és interakciós hálózatok szerkezeti elemzése – egy esettanulmány

Vasas Vera
V. évf. biológus
ELTE TTK Növényrendszertani és Ökológiai Tanszék
témavezető: Jordán Ferenc

Egy adott ökoszisztéma vizsgálata során értékes következtetésekre juthatunk, ha elemezzük a táplálékhálózatát. A trofikus kapcsolatok szerkezetéből következtethetünk a közösség stabilitására, sebezhető pontjaira, az egyes élőlénycsoportok szerepére az ökológiai rendszer fenntartásában, stb. Az utóbbi évek vizsgálatai viszont arra utalnak, hogy a préda-predátor kapcsolatok mellett hasonló jelentőséggel bírhatnak a nem trofikus hatások is - így például a mutualizmus, facilitáció, kompetíció, stb. Ezeknek a trofikus hatásokkal való együttes kezelésére azonban jelenleg nincs kidolgozott módszertan.

Vizsgálatomban az Észak-Amerika keleti partján elterülő Chesapeake-öböl adatait használtam, amely az Egyesült Államok egyik legintenzívebben kutató vízi élőhelye. Az öböl mezohalin régiójára kidolgozott táplálékhálózatot alapul véve megszerkesztettem a legfontosabbnak ítélt nem trofikus hatásokat is reprezentáló interakciós hálózatot. Emellett az eredeti hálózat felbontását és információtartalmát szisztematikusan változtatva (pl. a súlyozás illetve az irányítás elhanyagolásával) többféle gráfot hoztam létre.

Az így kapott trofikus és interakciós hálózatokat gráfelméleti módszerek segítségével vettem össze. A KeyPlayer és az Ucinet nevű szociometriai szoftverek alkalmazásával kiszámoltam a legelterjedtebben használt centralitásindexeket, majd a topológiai fontosságot, valamint elvégeztem a mátrixhatványozáson alapuló, R. E. Ulanowicz által kifejlesztett ökológiai input-output analízist.

Célom az volt, hogy meghatározzam, a nem trofikus kölcsönhatások figyelembevétele és az adatok minősége hogyan és milyen mértékben befolyásol egyes fontos közösségszerkezeti indexeket. Elemeztem továbbá az egyes indexek relevanciáját, felhasználhatóságuk feltételeit. A nyilvánvaló természetvédelmi vonatkozásokat is felvázolom.

NÖVÖKO-7

Gagea bohemica (Zauschn.) Schult. et Schult. vizsgálata Vöröskő-Váron

Wollner Judit

III. évf. biológus-ökológus

DE TTK Növénytani Tanszék

témavezető: Dr. Molnár V. Attila

Hazánkban kevés a cseh tyúktaréj biológiájára vonatkozó irodalmi adat, ezekben olykor ellentmondások fedezhetők fel. Az előzetes tanulmányaink során felmerült, hogy a faj virágzási ideje az irodalmi adatoktól eltérő lehet. Genératív szaporodása nálunk nem bizonyított.

A *Gagea bohemica*-nak ismert egy, lakóhelyemhez közeli populációja, a Vöröskő-Váron, amelyen 2004-től kezdődően fenológiai-, szaporodásbiológiai-, morfológiai megfigyeléseket végzek. Ezzel a meglévő irodalmi adatokat szeretném kiegészíteni és tapasztalataimmal összevetni. A fenológiai vizsgálatokhoz az állomány ugyanazon egyedeit használtam. Eredetileg 56 egyedet jelöltem meg ezzel a módszerrel. Így lehetőségem van minden mintavételnél ugyan azokat az egyedeket mérni. Az alábbi morfológiai paramétereket mértem: a virágzó hajtások magasságát a földtől mérve, a bimbók, nyíló virágok, elnyílt virágok, érett termések számát. A felvételezési időszak: 2004. március 1-től 2004. április 16-ig.

Különböző szempontok alapján értékelem fenológiai eredményeimet, melyek közül elsőként a herbáriumi példányok virágzási idejét vetem össze tapasztalataimmal és hőmérsékleti adatokkal. A MTM Növénytárának a Karpato-pannonikum gyűjteményében lehetőségem nyílt a *Gagea bohemica* 43 herbáriumi lapjának megtekintésére. A lapokról a virágzási időt évre, hónapra, napra lebontott adatokkal tudtam rögzíteni. A legkorábban nyíló példányt összevettem a virágzási idején mért és egyben az 50 évi átlag hőmérséklet leghidegebb (1923.02.29.; -23.4°C) napjával. A rendkívüli hideg ellenére Pilisborosjenőn mégis nyíló egyedeket gyűjthettek. Az összes irodalmi, valamint a herbáriumi lapok adatait figyelembe véve, a vizsgálataim azt mutatják, hogy az enyhe őszi, és téli időjárás hatására a vöröskő-vári populáció viszonylag korán, már februárban bimbókat hozott, és a virágzás maximuma március elseje előtt lezajlott. Mivel ez a faj hidegtűrő, korai virágzása nem meglepő.

Ugyanez a multifaktorális jelenség érvényesül a virágszám relatív eloszlásának tekintetében is. Ennek alapján a hét virágú példányok jelenléte a meleg, csapadékos időjárás következményeként is felfogható (március 1-én tapasztaltam). A klimatikus viszonyok kívül jelentősége lehet a kőzetek kémiai összetételének és tulajdonságainak is. Több irodalmi adat is jelöli a fajt enyhén meszes alapkőzetben. Gyakorlati munkám során csak mészkőről hárshegy- homokkővön fellelhető egyedeket találtam.

Az alapkőzet kémiai összetételén kívül, más multikauzális hatások is előidéznek a maghozam hiányát. Ez a jelenség nem ismeretlen más élőhelyek vonatkozásában sem, mint például Nagy-Britanniában, és Németországban. Az irodalmi adatok (Rix és WOODS cit. SLATER (1990) alátámasztják feltételezéseimet, miszerint a faj csomókban való felbukkanása kizárólagos vegetatív szaporodását mutatja. Amennyiben valóban elmarad a termésérlelés, így a populáció genetikai variabilitásának lehetősége minimálisra csökken. Ez a populáció veszélyeztetettségét fokozza és a későbbiekben a kipusztulását eredményezi. Ennek okát szeretném akár több éven át is vizsgálni, mivel ez rendkívül összetett probléma.

ORNIT-1

Partimadár-fajok vonulása a Kárpát-medencében gyűrűzési eredmények alapján

Ferenczi Márta

III. évf. biológus

ELTE TTK Állatszervezettani Tanszék

Témavezető: Dr. Csörgő Tibor

A kontinens északi peremén fészkelő partimadarak őszi és tavaszi vonulásuk során többféle útvonalat használnak. Az általánosan ismert, atlanti partvidéken átvezetőn kívül van egy másik, kevésbé ismert, amelyik a szárazföld belsején keresztül vezet. Ezen helyezkedik a Kárpát-medence is.

A dolgozatban négy Limicola faj (havasi partfutó *Calidris alpina*, sárszalonka *Gallinago gallinago*, réti cankó *Tringa glareola*, piroslábú cankó *Tringa totanus*) vonulását jellemeztük, mivel a visszafogások és megkerülések zömmel e fajokhoz tartoztak. Összesen 150 egyedről volt információnk.

Elemeztük a visszafogások által kirajzolt vonulási útvonalakat és potenciális telelő területeket, a vonulás sebességét és a visszafogott madarak korcsoport eloszlását.

A visszafogások tanúsága szerint - viszonylag kis mintaszám ellenére - látható, hogy óriási északi területekről származnak és nagyon széles telelőterületre vonulnak tovább azok a madarak, amelyek vonulásuk során a Kárpát-medencében előfordulnak, itt megpihennek és a további útszakasz leküzdéséhez való raktározott zsírt felszedik. Ebből következik, hogy a Kárpát-medence - az e fajokra nagyon kedvezőtlen élőhely változások ellenére is - még mindig fontos átvonuló és pihenőhely a partimadarak számára.

ORNIT-2

Másodlagos nemi jellegek szerepe a hím örvös légykapók (*Ficedula albicollis*) életmenetében

Herényi Márton

2004. biológus

ELTE TTK Állatrendszertani és Ökológiai Tanszék

témavezető: Dr. Török János

A különböző másodlagos nemi jellegek kifejezettségének jelentős hatása lehet a madarak életmenetére. A hímek számára a feltűnő díszek viselete számos előnnyel járhat, azonban létrehozásuk és fenntartásuk költséges lehet. Ilyen költség például a nagyobb predációs veszély, a rosszabb táplálékszerző-képesség vagy a kevésbé hatékony immunrendszer. Ezek miatt általában csak a jó minőségű hímek képesek rá, hogy feltűnő díszeket hozzanak létre, melyek így megbízhatóan jelzik viselőjük minőségét a többi egyed számára. A kifejezettebb ivari jelzésekkel rendelkező, jó minőségű egyedek könnyebben foglalhatnak jobb territóriumot, gyorsabban és több nősténnyel állhatnak párba, több fiókájuk lesz, melyek jobb minőségűek lesznek, és közülük többen térnek vissza a szaporodó populációba. Így ezeknek a hímeknek nagyobb lesz a szaporodási sikere, mint a többinek.

Vizsgálataim célja annak kiderítése volt, hogy az örvös légykapó (*Ficedula albicollis*) pilisi populációjában van-e kapcsolat a hímek egész élettartam alatt produkált rekrutáinak száma, valamint másodlagos nemi jellegeik kifejezettsége között. Összehasonlítottam a monogám és a poligin egyedek rekrutaszámát is.

Eredményeim szerint a több rekrutát produkált hím légykapók egyéves korban mért homlokfoltja nagyobb volt, mint a kevesebbet produkáltaké, az egyéves kori szárnyfoltnál pedig hasonló tendenciát lehetett megfigyelni. Az egyéves korban több rekrutát produkált egyedek szintén nagyobb fiatalkori homlokfolttal rendelkeztek. A poligin hímek több rekrutát produkáltak, azonban a monogám és a poligin hímek homlokfoltméretében nem volt különbség. Tehát a homlokfoltbeli különbségek nem magyarázhatók azzal, hogy a nagy homlokfoltú fiatal hímek nagyobb valószínűséggel lesznek poliginek, és ezért lesz több visszafogott utódjuk. A kapott mintázat kialakításában a nagy homlokfoltú egyéves hímek jobb területszerző-képessége és az adultak nagy területhűsége játszhat szerepet.

Dolgozatomból kiderül, hogy az egyéves kori bélyegeknél fontos szerepe van az örvös légykapó hímek közötti különbségekben az egész élettartam alatti szaporodási siker szempontjából.

ORNIT-3

A gyöngybagoly, *Tyto alba* (Scop., 1769) vadászati és táplálékfordási viselkedésének elemzése videokamerás módszerrel

Inkeller Judit, Gyöző Diána és Ábrahám Attila

IV. évf. biológus

PTE TTK Zootaxonómiai és Szünzoológiai Tanszék

témavezető: Dr. Horváth Gyöző

Dél-Magyarországon, a Dráva-menti síkság területén, két egymást követő évben egy gyöngybagoly pár költési viselkedését, ezen belül zsákmányhordási aktivitását tanulmányoztuk éjszakai infrakamerás videofelvételek alapján. Egy templomtoronyban (Nagycsány), természetes költőhelyen, a fészekaljtól 70 cm távolságra helyeztünk el kamerát és a felvételek kép- és hanganyagát VHS-kazettákra rögzítettük. Két év alatt összesen 137 éjszakáról, 1644 óra felvételt készítettünk, a részletes elemzés során évenként 2x2 hét folyamatos mintavételezésének adatait használtuk fel. A két év felvételeinek megkezdése között egy hónap differencia van, melynek oka, hogy a 2004-es költési időszak kb. ennyivel hamarabb indult. A két első periódus az első fióka kikelését megelőző 14 nap, 2003. május 3-tól május 16-ig, illetve 2004. április 15-től április 28-ig tartó időszak volt. A második periódusok a 2003. június 1-14-ig és 2004. május 14-27-ig felvett videó-anyagok értékelését jelentették, amikor a fiókák 3, illetve 4 hetesek voltak. A kamerás rendszer 2003-ban éjszakánként 21³⁰-tól 8³⁰-ig működött, 2004-ben pedig 20³⁰-tól 7³⁰-ig, mert a felvételek kezdetének eltérő időpontját az egy hónappal korábban tapasztalt napnyugtához igazítottuk. A zsákmányhordási mintázat tehát erre az időszakra vonatkozik. Ebben az időintervallumban regisztráltuk a tojó és a hím minden viselkedési mintáját, továbbá kategóriákba soroltuk a fészekaljhoz hordott zsákmány-típusokat, melyek: Arvicolinae, Murinae, Soricidae, Aves, "Nem felismerhető". A dolgozat alapját a két vizsgált év vadászati és párzási adatok eredményeinek összehasonlításából származó különbségek képezik. Adatainkat vizsgálva, a kapott eredményeinket csoportokba rendeztük. Elemeztük, hogy a két év zsákmányállat típusainak megoszlása mutat-e különbségeket, illetve az ugyanazon év két periódusa között a hozott zsákmányállatok mennyiségi és minőségi különbsége hasonlóan változik-e mindkét év során (i). A sikeres éjszakai vadászatok időbeli mintázata alapján vizsgáltuk a tojó és a hím aktivitási mintázatainak eltérését a két vizsgált évben (ii). Tanulmányoztuk a költési időszakban a tojó és a hím párzási interakcióit, részletesen kitérve a zsákmányállat-ajándékozás jelenségének vizsgálatára (iii). A költési időszak során tapasztalt zsákmányhordási mintázat és aktivitás eredményeit, valamint a két év inkubációs időszakainak időbeli eltérését időjárás adatok függvényében értékeltük (iv).

ORNIT-4

A nádi tücsökmadár (*Locustella luscinioides*) vonulásának dinamikája, zsírraktározása, szárnymorfológiai jellemzői az őszi vonulási időszakban

Mátrai Norbert

IV. évf. környezetgazdálkodási agrármérnök

SZIE MKK, SZIE Állattani és Ökológiai Tanszék, BDF Állattani és Ökológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Bakonyi Gábor, Dr. Gyurácz József

A Baranya megye déli részén található Sumonyi-halastavaknál (45°48'N; 17°56'E) az MME Baranya megyei csoportja 1981-ben indította a madárgyűrűzési programot az MME Actio Hungrica madárvonulás-kutató projekt részeként. 1999-ben csatlakoztunk a South-East Bird Migration Network nemzetközi kutatási hálózatához is. 1983-tól 2002-ig összesen 2504 nádi tücsökmadarat gyűrűztünk és mértünk meg. Az őszi vonulás részletes elemzését az 1993-2002-es évek adatai alapján végeztük el, melyek során négyes célkitűzésünk volt. 1) megfigyelhető-e valamilyen tendencia a vonuló populációk évi egyedszámában a vizsgálati időszak alatt? 2) van-e különbség a nádi tücsökmadarak őszi vonulásának dinamikájában? 3) a fogási adatok alapján tudunk-e a vizsgálati területen több vonuló populáció jelenlétére következtetni? 4) a visszafogott nádi tücsökmadarak feltöltik-e zsírtartalékait a vizsgálati területen? 5) A fogási adatok alapján van-e különbség a madarak térbeli eloszlásában a foltos- és cserregő nádiposztákokhoz képest?

A vonuló populációk egyedszám-változási indexében 1983-1992 között csökkenő tendencia figyelhető meg ($R^2=0,81$), majd 1993-2003 között a populáció nagysága stagnál. A vonulás időbeli alakulása a napi fogások alapján exponenciális függvényvel írható le ($R^2=0,85$). Az 1993-2002 évek adatai alapján elvégzett Kruskal-Wallis-teszt során megállapíthatjuk, hogy az egyes években a vonulás dinamikája jelentősen különbözhet egymástól ($H=64,6$). A vizsgálatok során néztük a 3. kézevező és a szárnyhosszúság arányát, valamint a szárny meredekségét. Az adatok alapján megállapíthatjuk, hogy a mért biometriai paraméterek alapján nem tudunk több vonuló populációt kimutatni a vizsgálati területen.

A visszafogott madarak utolsó visszafogáskor mért testtömege ($15,23 \pm 2,49$ g) és átlagos becsült zsírtartaléka ($1,67 \pm 1,44$) szignifikánsan nagyobb volt, mint az első befogás alkalmával ($14,48 \pm 1,37$ g); $t=2,42$; $t=2,61$; $df=54$; $p<0,05$). Az élőhely választás vizsgálata során megállapítható, hogy a posztákkal ellentétben a nádi tücsökmadarak a vízfelszín feletti 1 méteres zónában szerzik be táplálékukat, valamint a partközeli és a nyílt vízhez közeli nádasban ugyan olyan valószínűséggel előfordulhatnak.

Az eredmények alapján látható, hogy Sumonyi-halastavaknak nagy szerepe van a nádi tücsökmadarak őszi vonulásában, azonban vonuló populációkat biometriai paraméterek alapján nem tudunk elkülöníteni a nádi tücsökmadarak esetében.

ORNIT-5

Az ének szerepének vizsgálata a függőcinege szaporodási rendszerében

Menyhárt Otília

V. évf. zoológus

SZIE ÁOTK Ökológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Szentirmai István, Dr. Liker András

A madarének a viselkedésökológia leggyakrabban kutatott, ennek ellenére máig legvitatottabb jelenségei közé tartozik. Az ének különösen fontos tényező lehet a függőcinege (*Remiz pendulinus*) esetében, melynek szaporodási rendszere egyedülálló és ez idáig feltáratlan, mivel sem a párvalasztás, sem az utódgondozás szempontjai nem ismertek. A tojásrakás után mindkét szülő elhagyhatja fészket (dezertálhat): így vagy a másik szülőre hárul az utódgondozás, vagy az esetek több mint 30%-ban mindkét szülő pusztulni hagyja a fészkalját. A dezertáló szülők gyakran újrapárosodnak. A nemek közötti kielezett érdekellentét következtében tehát a párvalasztás tétje nagy.

Vizsgálataim célja kideríteni, hogy milyen szerepet tölthet be a hím éneke a párvalasztásban és a szülők utódgondozási döntésében. A 2002-es év elővizsgálatai alapján 2003-ban az egyedileg megjelölt hímeknél párbaállítás előtt mértem az ének gyakoriságát, az ének hosszát és a hívóhang gyakoriságát. Ezeket a paramétereket hasonlítottam össze a párbaállt és pár nélkül maradt hímek között, és megvizsgáltam a változók kapcsolatát a hímek párbaállásáig eltelt idővel. Továbbá vizsgáltam, hogy a hímek énekének paraméterei befolyásolják-e a dezertáló szülő nemét.

Az elemzések során nem találtam különbséget a párbaállt és párba nem állt hímek énekparaméterei között. A párbaállt hímek közül a gyakrabban éneklő egyedek rövidebb idő alatt találtak párt, mint ritkábban éneklő társaik. Az ének hossza és a hívóhang gyakorisága nem volt hatással a párbaállási időre. Sem az ének gyakorisága és hossza, sem a hívóhang gyakorisága nem különbözött szignifikánsan a hím vagy tojó vagy mindkét szülő által elhagyott fészkaljak között.

Ezeket az eredményeket összevettem a tavalyi év terepvizsgálatainak eredményeivel. Az utódgondozást vállaló szülő neme egyik évben sem állt kapcsolatban a hímek énekének tulajdonságaival. Az énekparamétereknek a párbaállításban mindkét terepszezon során kimutatható szerepe volt, azonban a két évben eltérő módon: 2002-ben az ének hosszának, 2003-ban viszont az ének gyakoriságának volt jelentősebb hatása a párbaállásra. A két év közötti különbség egyrészt abból adódhat, hogy a második szezonban kétszer nagyobb volt a mintaszám, mint az elővizsgálatok során. Másrészt az évek között jelentős különbség lehet számos általam nem vizsgált szempontból (pl. időjárás).

Eredményeim arra utalnak, hogy a hím énekének szerepe lehet a függőcinege párvalasztásában. Ennek a szerepnek a tisztázására az ének szerkezetét és repertoárméretét fogom elemezni a 2003-ban rögzített hangminták alapján.

ORNIT-6

Szigetközi erdő-izolátumok téli madárközösségeinek vizsgálata

Németh Kálmán
IV. évf. biológia-testnevelés
SZTE JGYTFK Biológia Tanszék
témavezető: Dr. Molnár Gyula

A dolgozat a téli madárközösségek, kiemelten a cinege-félék kapcsolatrendszerét dolgozza fel három különböző erdőizolátumban. Az avicönózisok komparatív vizsgálatára nyílt lehetőség, amit a szeptember 27-től március 19-ig tartó vizsgálatok heti rendszeressége tett lehetővé. A cinege-csapatok esetében a munkahipotézis szerint a fajok egyedei a resource-ok szűkülésével, a hőmérséklet csökkenésével térben közelítenek egymáshoz, míg a tél közepén már egy csapatban mozognak. Célom volt e feltevés alátámasztása vagy szembeállítás a saját vizsgálataim eredményeivel. A távolság mérésére a becslés módszerét alkalmaztam, így a becslési pontatlanság miatt lehetnek eltérések.

Mindhárom erdő-izolátum életkorát tekintve közelít a záró társuláshoz, ezért a faj- és egyedszámok, valamint a diverzitás és egyenletesség adatai hasonlóan magas értékeket mutatnak. A nemes nyáras vertikális strukturáltságának szegénysége miatt alacsonyabb értékeket produkált. A teljes megfigyelés alatt az izolátumokban egyaránt észlelhető a kezdeti magasabb, az őszi vonulás idején alacsonyabb faj- és egyedszám. Télen viszonylag stabil számérték jellemző, ami a kora tavaszi aspektusban csökken, ezt követően erőteljesen növekszik mindhárom biotópban. A kék cinegék és színcinegék közötti távolság csökkenése hasonló, mint a cinegék és őzapók között. Amíg megfelelő mennyiségű táplálék áll rendelkezésre nem közelednek egymáshoz. A resource-ok (magvak, rovarok, stb.) csökkenésével közelebb kerülnek egymáshoz, így a különböző fajokból álló csapatok egyedei keverednek és közösen kutatják fel a táplálékot. A diverzitás az izolátumokban hasonlóan magas, mely tükrözi a vizsgált biotópok sokszínűségét, fajgazdagságát. Az őszi és tavaszi vonulási időszakban alacsonyabb értéket ad, mint a nyári és téli aspektusban. A magas diverzitási értékek az izolátumok természetvédelmi értékére is felhívják a figyelmet. Az egyenletesség magas értékei általában 0,8 és 1 közötti skálán belül mozognak, ez azt jelenti, hogy a vegetáció idős (30-80 éves), strukturált és a madarak egyenletesen osztották fel egymás között a rendelkezésre álló „teret”.

A tanulmányban a vizsgálati eredményeimmel alá támasztom a feltevést, és ilyen módon a célokat is elértem. A három különböző növénytársulásban a cinegék és az őzapók a tél közepére vegyes csapatokban keresik a táplálékot. Az eredmények szerint a különböző biogeocönózisok madárfaunája hasonló stratégiát alkalmaz a táplálékban szűkösebb téli hónapok átvészelésére.

ORNIT-7

A gyöngybagoly, *Tyto alba* (Scop., 1769) tojó viselkedése a költés inkubációs időszakában

Peres Szilvia és Kasza Orsolya*
IV. évf. biológia, II. évf. környezettan és III. évf. biológus
PTE TTK Zootaxonomiai és Szünzoológiai Tanszék
témavezető: Dr. Horváth Győző

A madarak költési viselkedésének tanulmányozásában egyre elterjedtebb a nappali aktivitású fajoknál a digitális, míg az éjszaka aktív fajoknál az infrakamerás monitorozás. A PTE TTK Zootaxonomiai Tanszéke 2003-ban indította el a fokozottan védett gyöngybagoly költési viselkedésének infrakamerás monitorozását. Dél-Magyarország, a Dráva-menti síkság két településén (Nagycsány, Besence) a templomtoronyban, a gyöngybagoly természetes fészkelőhelyén, a fészekaljól 70 cm-re helyeztünk el kamerát. A videofelvételek elemzése alapján dolgozatunk témája a gyöngybagoly tojó inkubációs időszakában zajló viselkedésének vizsgálata, amely során két felnőtt költő madár adatainak elemzésére és összehasonlítására volt lehetőségünk.

A két költőhelyet tekintve összesen 198 éjszakáról, 2376 óra felvételt készítettünk. Az elemzés során 3x2 hét folyamatos mintavételezésének adatait használtuk fel. Minden egyes költési ciklusban részletesen tanulmányoztuk az első fióka kikelését megelőző 14 nap eseményeit, Nagycsányban 2003. május 3-16-ig, 2004. április 15-28-ig, illetve Besencén május 17-31-ig. A felvételeket VHS kazettára rögzítettük. A kamerás rendszer éjszakánként 21³⁰-tól 8³⁰-ig működött, így a madarak inkubációs idejének vizsgálata erre az időszakra vonatkozik.

A gyöngybagoly tojó viselkedésének vizsgálatában a költési periódus inkubációs időszakára vonatkozóan 8 viselkedési mintát különítettünk el, amelyeket a felvételek adatai alapján tovább lehetett finomítani. Az adatbázisban akkor választottuk el ezeket a részletesebb viselkedési egységeket, ha legalább 5 másodpercig voltak megfigyelhetők. Ezek napi gyakoriságát és időbeli eloszlását vizsgáltuk, megadva az egyes mintavételi időszakokban számított napi átlagokat. A felvételek alapján a tojó számottevő időt töltött a paraziták irtásával, a köpetek morzsolgatásával. Az utóbbi viselkedési minta célja és eredete vizsgálandó kérdésként merült fel, minthogy nem tudott, hogy ez a fészkepítés hiányából adódó pótcselekvés, vagy mivel a tojó nem vadászik, ezért az éhségérzet következménye is lehet.

A két költő pár viselkedésének összehasonlítása során vizsgáltuk a tojó szempontjából kiemelt viselkedési típusokat, elemeztük a viselkedési mintázatok arányát, hasonlóságát és különbségeit.

ORNIT-8

Megjósolja-e a tollazat minősége a madarak szaporodási sikerét a vedlést követő szaporodási időszakban?

Sverteczki Emőke
V. évf. zoológus
SZIE ÁOTK, Ökológiai Tanszék
témavezető: Dr. Liker András

Madaraknál a tollazat minősége befolyásolja a hőháztartás hatékonyságát és a repülésbe fektetett energiát, ezért feltételeztük, hogy a tollak minősége jelzi a madarak minőségét pl. potenciális pár felé, így a jobb minőségű tollakkal rendelkező madarak szaporodási sikere nagyobb lesz. Korábbi tanulmányok kimutatták, hogy az éppen aktuális szaporodási időszak eredményessége a vedlés időpontjának kitolódása miatt befolyásolja a szaporodási sikert a következő évben. A tollazat minőségének összefüggését a szaporodási sikerrel azonban eddig még nem vizsgálták.

Vizsgálatunk során a házi veréb (*Passer domesticus*) szaporodási sikerét tanulmányoztuk szárnytollaik minőségének függvényében. Terepi megfigyelésekkel kimutattuk, hogy a sérültebb tollú hím verebek több fiókat reptetnek az éptollúaknál ($r_s = 0.686$, $P = 0.020$, $n = 11$, Spearman rangkorreláció). Tojóknál nem találtunk ilyen összefüggést. Feltételezéseink szerint a sikeresebb hímek többet verekednek a jó minőségű költőhely és/vagy jó minőségű pár megszerzéséért, így tollaik is gyorsabban kopnak. Ezt a feltételezést aviáriumi kísérletben ellenőriztük, melynek során három hónapig tartottunk két csapatot röpdében, és a madarak verekedési viselkedését vizsgáltuk. A madarakat a kísérlet végén szabadon engedték. Azok a hímek, amelyek tollai aviáriumi tartózkodásuk végén kopottabbak voltak, nagyobb arányban nyertek verekedéseket kevésbé kopott társaiknál (nem szignifikáns trend: $F_{1,17} = 3.660$, $P = 0.074$ lineáris regresszió).

Vizsgálataink a kiindulási hipotézisünkkel ellentétben a szárnytollaknak a szaporodási siker növekedésével együtt járó kopását mutatták ki hímeknél, amit a sikeresebb hímek intenzívebb versengésével magyarázunk, és a szaporodás egyik költségének vélünk. Erre azonban jelen vizsgálatunkban csak közvetett megerősítést kaptunk, így további vizsgálatokat tartunk szükségesnek.

ORNIT-9

A klímaváltozás hatása a madarak őszi vonulására

Tóth András
III. évf. biológus
ELTE TTK, Állatszervezettani Tanszék
témavezető: Dr. Csörgő Tibor

A közelmúltban elkezdődött, és az elmúlt néhány évtizedben rendkívül felgyorsult globális felmelegedés okozta klímaváltozásnak egyre kézzelfoghatóbb hatásai vannak.

A Föld légkörének átlaghőmérséklete az elmúlt 50 évben 1,5-2°C-kal emelkedett. A becslések szerint 1°C-fok emelkedés körülbelül 150 km-rel tolja észak felé az éghajlati öveket. A legtöbb fajnak az ember által okozott élőhely degradáció miatt nincs hová hátrálni, de legalább ilyen komoly probléma a változások evolúciós léptékekkel mérve rendkívüli gyorsasága is.

A madarak életciklusában bekövetkező változások jól nyomon követhetőek. A mérsékelt égvönön az egyre melegebb téli és tavaszi hőmérséklet növelheti a túlélést, rezidens tulajdonságú egyedek arányát a parciális vonuló fajok populációiban, előre hozhatja a vonulók tavaszi érkezését, a fészkelés kezdetét stb. A probléma jellegéből (nagy földrajzi egységek, bonyolult kölcsönhatások, a trendek megállapításához szükséges standard, hosszú távú adatsorok hiánya) következik, hogy viszonylag kevés vizsgálati eredmény ismert ebben a témában.

Vizsgálatomat az Ócsai Madárvárta Egyesület madárvártáján 1987-2002 között befogott madarak adatai alapján végeztem. A madarakat a vizsgálati időszak alatt ugyanannyi, több vegetáció típusban állandó helyen felállított hálósával fogtuk be. A munka minden évben július közepén kezdődött, de az első években csak szeptember végéig, míg az utóbbi években október végéig tartott. A 15 faj hosszú távú vonuló, és őszi vonulásuk az adott időintervallumban teljesen befejeződik. A fogási adatok alapján kumulatív görbét szerkesztettem, és megállapítottam az 50 ill. 90 %-s értékek dátumát. (Az adott faj és korcsoport őszi vonulása során eddig a napig 50 ill. 90 %-át fogtuk meg). Ezek évenkénti eloszlására egyenest illesztettem, és vizsgáltam ezek meredekségét, ill. a 0 meredekségtől való eltérés szignifikanciáját. A vonulási dinamikájukban eltérő korcsoportokat külön kezeltem.

Az eredmények látszólag ellentmondásosak, és többnyire csak tendencia jellegűek. Mind a korábban, mind a későbbben vonulók között található olyan faj, melynek vonulása későbbre tolódott, de olyan is, melynek korábbra. Ezek a fajok eltérő vonulási stratégiáival és egyéb ökológiai tulajdonságaival magyarázhatók. Az adatsorok hosszabbodása - véleményünk szerint - már a közeljövőben is egyre több statisztikailag is alátámasztott változást hoz.

ORNIT-10

Interspecifikus infantid, mint a guilden belüli kompetíció eszköze?

Varga Sándor
 III. évf. biológus
 PTE TTK Genetikai és Molekuláris Biológiai Tanszék
 témavezető: Mátics Róbert

1985 óta az MME költőládákat helyezte ki Baranya megyei települések templomtornyába. 1996 és 2004 között a ládákból egyre gyakrabban fordultak elő macskabagolyköltések. Ezzel párhuzamosan egyre gyakrabban jelentek meg szekvenciális költések (egy szezonon belül mindkét faj költ ugyanabban a ládában) és macskabagolyfiókákkal szemben elkövetett infantidok. Kutatásunk célja, hogy az 1996 óta összegyűjtött populációs- és költési paraméterek feldolgozásával megvizsgáljuk, milyen folyamatok állnak az infantid események hátterében. Három fő hipotézist állítottunk fel: 1. A macskabagoly (továbbiakban MB) öli meg a fiókákat (szexuálisan szelektált infantid). 2. A MB elhagyja a költést és a gyöngybagoly (továbbiakban GYB) követi el az infantidot. 3. A GYB öli meg a fiókákat, hogy korábban jusson költőhelyhez. A vizsgálatokhoz az 1996 és 2004 között gyűjtött adatokat használtuk fel. Az statisztikai feldolgozáshoz Pearson-féle korrelációt, Student-t próbát és Fisher-féle egzakt tesztet használtunk és a következőket feltételeztük: 1. A MB korábban költ, ezért ő választhatja ki a legjobb költőhelyeket. Ezért a költési paraméterekben különbségek adódnak a szekvenciális és nem szekvenciális esetek illetve az infantidot elszenvedők és el nem szenvedők között. 2. Ha a MB felelős az infantidért, akkor a MB-populáció denzitásának növekedésével az infantidok száma növekszik, de a GYB-populáció növekedésével ez nem következik be. 3. Ha a GYB-populáció növekedése mellett az infantidok száma nő, akkor a GYB követi el az infantidot. A statisztikai analízissel nyert eredmények alapján a következőket igazoltuk:

- Az infantidot elszenvedő MB-költések fiókaszáma a legnagyobb.
- A szekvenciális költések mennyisége a GYB populációméretétől függ, a MB-étól nem.
- Ha több a szekvenciális költés, több az infantid.
- Ha több a GYB, több az infantid, de ha több a MB, nem több az infantid.
- Amíg a költőládák kb. 50-60 %-a szabad, nincs infantid.
- Ha ennél kevesebb a szabad láda, akkor csak a GYB által foglalt ládák arányában mutatkozik küszöbérték az infantidok számában, MB esetében nem.
- Ha a MB költést GYB költés is követi, magasabb az infantid aránya, mint ha nem követi GYB költés a MB-t.

Mindezek alapján kizárható, hogy a MB lenne a tettes, és nagyon valószínű, hogy a GYB követi el az infantidokat. A dolgozat ismerteti, hogy milyen előnyökkel jár a GYB számára az infantid, valamint tágabb kontextusban tárgyalja a jelenség lehetséges magyarázatait.

ORNIT-11

Parlagi sasok egyedi azonosítása nem-invazív mintavételi módszer segítségével

Vili Nóra
 V. évf. zoológus
 SZIE ÁOTK Ökológia Tanszék
 témavezetők: Dr. Kabai Péter, Dr. Horváth Márton, Dr. Kalmár Lajos

A parlagi sas (*Aquila heliaca*) fokozottan veszélyeztetett faj, az erdősztyepp régió csúcsragadozója, elterjedési területe a Kárpát-medencétől a Bajkál-tóig nyúlik. A faj világállománya jelenleg 2-3000 pár közé tehető, amelyből hazánkban mintegy 70 pár fészkel. A vizsgálat során hazai parlagi sas példányok DNS-ujjlenyomatát határoztuk meg későbbi természetvédelmi és populációdinamikai felhasználás céljából.

A mintavétel ún. nem-invazív módon történt: a DNS-hez az egyedek befogása nélkül, a vedlett tollakból jutottunk. A tollak csévéjén található felső köldöknél átlépő ér a tollfejlődés lezáródása után visszahúzódik. Az átlépés helyén megmaradó vérrögéből kinyert DNS elegendő az ivar meghatározásához és a mikroszatellita analízishez.

A jelenlegi vizsgálatban 2002 és 2003 folyamán gyűjtött tollakat használtunk, amelyek 26 fészekből (19 síkvidéki és 7 hegyvidéki) származtak. Ez a magyarországi állomány közel 40%-át jelenti. A kiválasztott fészkeknél két egymást követő évben (2002/2003) hasonlítottuk össze az egyedeket.

A vizsgálat során 65 tollból történt DNS-kivonás. Ezt követte az ivar-meghatározás, aminek során azt tapasztaltuk, hogy a tollak mintegy 85%-a származik a tojóktól és csupán 15%-a a hímeiktől. A DNS-ujjlenyomat meghatározásához 9 kellően polimorf lokuszra tervezett primerpárt használtunk, a fragmensanalízis kapilláris elektroforézissel történt.

A vizsgálat még nem zárult le, szeretnénk további fészkeket és több évet is bevonni, hogy az állomány territórium-, fészek- és párhűségéről képet kapjunk mindkét élőhely-típus esetén.

SZÜNZOO1-1

Talajlakó pókegyüttesek összehasonlító vizsgálata a Velencei-tó három különböző nádasában

Kancsal Béla

V.évf. biológus

ELTE TTK Állatrendszertani és Ökológiai Tanszék

témavezető: Dr. Szinetár Csaba

Európa nádasait a veszélyeztetett és érzékeny élőhelytípusok sorában tartják számon a múlt század hatvanas éveitől kezdődően. A hazai nádasok pókfaunájának felmérése és vizsgálata az 1990-es évek elejétől kezdődően több hazai tájegységben is zajlik. A Velencei-tó pókfaunájának tematikus kutatására korábban nem került sor, csupán néhány szórványos gyűjtésre vannak utalások az irodalomban. A sekély vizű un. sztyepptavak sorába illeszkedő Velencei-tó nádasának kutatása elengedhetetlenül fontos, ahhoz, hogy a hazai nádasok pókjairól, különösen néhány kevésbé ismert biológiájú fajról teljesebb képet kapjunk.

A fentiekben leírt előzmények alapján a 2003-ban megkezdett vizsgálatoknak az alábbiak a konkrét célkitűzései: a Velencei-tó szegélynádasaiban, valamint a nádszigetein élő talajszinti pókfauna felmérése és összehasonlító vizsgálata; a kezeletlen, illetve az aratott nádasok faunájának összehasonlító vizsgálata, a dominancia viszonyok megismerése és a legjellemzőbb fajok zonációjának leírása.

A reprezentatív mintaterületek kijelölése 2003 nyarán történt meg Agárd térségében. A dolgozatban szereplő vizsgálati anyag a 2003. novemberétől 2004. júniusáig terjedő időszak Barber-féle talajcsapdázásából származik. Ezen időszak alatt 77 pókfaj 2776 egyede lett begyűjtve és meghatározva. A területek összehasonlításához a 2004. április 28 és június 02 közötti időszakot választottuk.

A faunisztikai eredmények közül kiemelendő két faunára új (*Araeoncus crassipes* (Westring, 1861), *Entelecara omissa* O.P.- Cambridge, 1902), mellett több ritka előfordulású faj kimutatása (*Glyphesis taoplesius* Wunderlich, 1969, *Pelecopsis mengei* (Simon, 1884)). A felmérés során sikerült megállapítani, hogy a vizsgált területek (parti öv kezeletlen, illetve aratott nádas, valamint nádsziget) talajlakó fajegyüttesei fajkészletükben és denzitásvizszonyaikban is jelentős különbségeket mutatnak. A vízszegéllyel párhuzamosan kihelyezett csapdászorok összehasonlítása alapján kimutatható volt a szegélynádas talajlakó pókjainak zonációja.

A vizsgálatok arachnológiai eredményei fontos információkkal szolgálhatnak a Velencei-tó nádasának eddig ismeretlen zoológiai értékeiről, a szegélynádasok, illetve a ma nagyobb összterületet képviselő nádszigetek jellemzőiről, továbbá a nádasok kezelésének hatásairól is.

SZÜNZOO1-2

Nádasok kabócaközösségének (*Homoptera, Auchenorrhyncha*) vizsgálata a Naplás-tó természetvédelmi területen

Koczor Sándor

2004. zoológus

SZIE ÁOTK, Zoológiai Intézet, Kihelyezett Zootaxonomiai Tanszék

témavezető: Orosz András, Dr. Hornung Erzsébet

Kutatásunk során Auchenorrhyncha együtteseket vizsgáltunk a Naplás-tó természetvédelmi terület (Budapest, XVI. kerület) különböző mértékű a zavarásnak (1, 4, és 10 éve égetett) kitett nádfoltjaiban (*Phragmites australis*). Mintavételi módszerként tálcspadázást és fűhálózást alkalmaztunk. A vizsgálatok során azokat a fajokat vizsgáltuk, amelyek -irodalmi adatok alapján- monofágok és tápnövényük a nád. Valamint figyelembe vettük az irodalmi adatok alapján relevánsnak tekinthető háttérváltozókat is (nádsűrűség, potenciális kompetitorok mennyisége).

Eredményeink azt mutatták, az egyes foltok különböznek, mind fajszám, mind egyedszám alapján. Vannak olyan fajok, melyekre a zavarás feltehetően negatív hatással van, őket zavaráskerülőnek neveztük el (*Calamotettix taeniatus*). Ez a faj csak a 10 éve nem kezelt területen fordult elő. Más fajok esetén a zavarás negatív hatása nem volt tapasztalható, őket zavarástűrőnek neveztük (*Chloriona smaragdula*, *Chloriona unicolor*, *Euides basilinea*, *Paralimnus lugens*). Az endofágok aránya a legnagyobb a 10 éve égetett foltban volt. A legtöbb faj bimodális eloszlást mutatott a vizsgálatok ideje alatt, kora augusztusi diapauzával.

Kutatásaink alapján elmondhatjuk, hogy az egyes nádfoltok között markáns különbségeket tapasztaltunk kabócák alapján. Az égetés hatása leginkább a ritka fajok hiányában mutatkozott meg és néhány tömegesebb faj jelenléte volt megállapítható. Természetvédelmi szempontból tehát fontos annak vizsgálata, hogy az egyes területeket érő kezelések térbeli, időbeli hatásait pontosan ismerjük a területen élő fajok hatékonyabb megőrzése érdekében. A kutatás során a *Paralimnus phragmitis lugens* (Horváth, 1897) taxonómiai státusza is revízióra került. A korábban alfajként kezelt taxon önálló fajnak bizonyult.

SZÜNZOO1-3

Urbanizáció futóbogarakra gyakorolt hatásának vizsgálata a GlobeNet projekt keretében

Mizser Szabolcs, Nagy Leila
 V.évf.biológia-környezettan
 DET TTK Ökológia Tanszék
 témavezetők: Dr. Tóthmérész Béla, Dr. Magura Tibor

A futóbogarak (*Coleoptera: Carabidae*) urbanizációra adott reakcióit vizsgáltuk egy városi-városszéli-városon kívüli grádiens mentén. A futóbogarakat talajcsapdázással gyűjtöttük teljes aktivitási periódusuk alatt egy várost övező alföldi erdőben, a Debreceni nagyerdőben. Az átlagos fajszám szignifikánsan magasabb volt a városon kívüli és városi területeken a külvárosi területhez képest. A városi területen a nyitott élőhelyeket preferáló fajok fordultak elő leginkább. Az erdei specialista fajok száma szignifikánsan nőtt a városi-városon kívüli grádiens mentén. Az össz egyedszám szignifikánsan magasabb volt a városon kívüli területen, mint a másik két területen. Az eredményeink nem támasztották alá a köztes zavarási hipotézist, mely szerint a diverzitás csökken a növekvő zavarással. Ellentmondtak a köztes zavarási hipotézisnek is: a fajgazdagság legmagasabb a mérsékelten zavart külvárosi területen. A városi területen az opportunisták domináltak. Az átlagos testméret szignifikánsan nagyobb a városon kívüli és külvárosi területeken, mint a leginkább bolygatott városi területen. Sokváltozós módszerrel mutattuk ki a fajösszetételi és egyedszámbeli különbségeket a városi-városon kívüli grádiens mentén.

SZÜNZOO1-4

Tarsza fajok (*Orthoptera, Tettigoniidae, Isophya*) variabilitása Baranya-megyében

Nyárády Kata, Ifj. Antal Ferenc
 III.-V.évf. biológus
 PTE TTK Zootaxonómiai és Szünzoológiai Tanszék, Genetikai és Molekuláris
 Biológiai Tanszék
 témavezetők: Vadkerti Edit, Dr. Putnok Péter

Munkánk célja a négy Baranya-megyei *Isophya* faj (*I. brevipennis*, *I. costata*, *I. modesta*, *I. modestior*) összehasonlítása habitat választásuk, morfológiai bélyegeik és genetikai variabilitásuk alapján.

A mikrohabitat kategóriába soroltuk be: mezofil füves, xerofil füves, mezofil bokros, xerofil bokros. A habitat választás összehasonlításához cluster-analízist alkalmaztunk (SPSS 11.01). Az elemzés során két csoport különíthető el: egyikbe tartozik az *I. costata* és az *I. modesta*, a másikba az *I. brevipennis* és az *I. modestior*. A fajok indikációját az IndVal programmal mutattuk ki. Az *I. brevipennis* a mezofil bokros, az *I. costata* a füves (elsősorban mezofil), az *I. modestior* a xerofil bokros élőhelyeket indikálja. Az *I. modesta* nem indikálja szignifikánsan egyik élőhelyet sem.

A hímek esetében 11 morfológiai jelleget mértünk: femur hosszúság és szélesség, jobb- és balszárny hosszúság és szélesség, pronotum hosszúság és szélesség, cercus hosszúság, subgenitális lemez bevágásának mélysége és két csúcsa közti távolság. A nőstényeknél 10 jelleget mértünk: femur hosszúság és szélesség, jobb és balszárny hosszúság és szélesség, pronotum hosszúság és szélesség, tojócső hosszúság és szélesség. A fajok összehasonlításához a leíró statisztikák mellett diszkriminancia analízist alkalmaztunk, mint többváltozós módszert. A diszkrimináló függvények alapján a vizsgálatba bevont hímek 99.1%-a, a nőstények 93.2%-a megfelelően csoportosítható. A fajok variabilitását két fajnál (*I. costata*, *I. modesta*) változónként több szinten vizsgáltuk: fajok között, populációk között és populáción belül. A variabilitás több mint 50%-a a hímek és a nőstények esetén is a populáción belüli variabilitásból ered. Az elemzésekhez az SPSS 11.01. programot használtuk.

A genetikai vizsgálatokat további kutatások megalapozásának céljából készítettük. A fajok egy-egy egyedének 16S és ND1 mtDNS szakaszát vizsgáltuk.

Mind a morfológiai-, habitat- és genetikai vizsgálatok alapján a fajok hasonlóan csoportosíthatók: az *I. costata* az *I. modesta* fajhoz, míg az *I. brevipennis* az *I. modestior* fajhoz hasonlít jobban.

SZÜNZOO1-5

Homoki egyenesszárnyúak mobilitás-vizsgálata

Puskás Gellért

V. évf. biológus

ELTE TTK Állatrendszertani és Ökológiai Tanszék

témavezető: Dr. Nagy Barnabás, Szövényi Gergely

A Kiskunsági Nemzeti Park területén évek óta folyik a homoki szántók szukcessziójának kutatása. Egy terület sorsát döntően befolyásolhatják az ott élő növényevő gerinctelenek is, amelyek közül az Orthoptera fajok fordulnak elő a legnagyobb tömegességgel. Egy élőhely rovarközösségének összetételét a populációs kölcsönhatásokon túl a forráspopulációk távolsága (az adott terület elszigeteltsége) és a fajok kolonizációs képessége határozza meg. Ez utóbbi jellemzők különösen a friss, újonnan kialakult élőhelyeken lehetnek fontosak, ilyenek a fiatal parlagok is.

Munkánk során néhány a területen domináns és jellemzően a fátlan homoki élőhelyekhez kötődő egyenesszárnyú rovarfaj (*Calliptamus barbarus*, *Oedaleus decorus*, *Dociostaurus brevicollis*, *Euchorthippus pulvinatus*) természetes mozgását követtük nyomon egy egyedi jelölés-visszafogás módszerrel. Ennek lényege, hogy az állatokat egyedi és a megtalálásukat lehetővé tevő jelölés után elengedtük, majd egy vagy kétnaponta éjjel, fejlámpa segítségével felkerestük őket és regisztráltuk tartózkodási helyüket. Módszertani újításunk ez utóbbi probléma leküzdésére irányult: meghatároztuk az egyes visszafogási pontok ismert helyű referenciapontoktól való távolságát (lézeres távolságmérővel), ebből kiszámolhatóvá vált a pontos lokalizáció. Az éjszakai visszafogások lehetővé tették, hogy ezen nappal aktív rovarok legkevesebb zavarásával gyűjthessünk róluk információt.

Az így kapott adatokból jellemző mozgási mutatókat számoltunk (átlagos napi megtett út, diszperziós tartomány stb.), amelyek azon túl, hogy az egyes fajok diszperziós tulajdonságait számszerűsítik, összehasonlító vizsgálatokra is lehetőséget adnak. Így egyértelmű különbséget mutattunk ki a megfelelő számú visszafogási adattal bíró két faj nemeinek mobilitási sajátosságai között, ami a *C. barbarus* esetében ellentétes a megszokott tendenciával: e fajnak a nőstényei mozgékonyabbak. Összefüggést találtunk néhány esetben a mobilitás és a szárnyhossz között, a tényleges mozgás egy-két időjárási paraméterrel is korrelált. Jelentős különbséget tapasztaltunk a két év mobilitásaiban, ennek számos lehetséges oka közül a területet egyik évben érő zavarást (legeltetés) kiemelten fontosnak gondoljuk.

SZÜNZOO1-6

A *Maculinea rebeli* (Lepidoptera: Lycaenidae) populációjának vizsgálata a Nagymezőn (Bükk-fennsík)

Tóth János Pál

V. évf. biológus

DE TTK Evolúciós Állattani Tanszék

témavezető: Dr. Varga Zoltán

Dolgozatom a *Lycaenidae* (Boglárkalepkék) család egyik sajátos életciklusú tagjával a *Maculinea rebeli*-vel (sztyeppvidéki hangyaboglárcsiga) foglalkozik. A genus fajainak fontos közös tulajdonsága, hogy mindegyik faj lárvája a 4. stádiumtól obligát szociálpazitaként különböző *Myrmica* hangyák fészkeiben fejlődik.

A *Maculinea* genus öt tagját veszélyeztetettnek ill. sebezhetőnek nyilvánította az *International Union for the Conservation of Nature (IUCN)*, felkerült az európai vöröslistára

A *Maculinea* genus fajainak rendszertani helyzete számos vitát vetett fel a taxonómusok körében. A vizsgálat objektuma a *Maculinea rebeli* taxonomiai helyzete sem tisztázódott egészen a közelmúltig. A dolgozatban a *Maculinea rebeli* nevet használok a *Maculineaalcon* szárazréti ökotípusának megnevezésére.

A 80-as évekre Európában sok *Maculinea* populáció kipusztult. A *Maculinea* genus fajainak megőrzése érdekében számos kutatás vette kezdetét.

Jelen tanulmány a Bükk-fennsíkon található Nagymező *Maculinea rebeli* populációjának dinamikáját tanulmányozza. A vizsgálat célja a populáció nagyságának és változási tendenciájának becslése ennek érdekében populáció méretének becslésén kívül látszólagos túlélést (Φ) és a visszafogási valószínűséget (p) is becsültünk. Mintavételezést 2002. 2003. és 2004. júniusában végeztük 9-9 ill. 11 napig. A becslésekhez többszörös jelölés-visszafogás módszert alkalmaztunk. A modellszelekcióhoz a túlélési ráta és a visszafogási valószínűség becsléséhez a Mark programcsomagot használtuk, míg az egyedszám becsléshez a Popan 5 programot.

2002-ben 239 egyedét észleltünk a mintavételi napokon, 2003-ban már csak 146 egyedét 2004-ben pedig mindössze 110 egyedét. Az eredmények alapján megállapítható, hogy a Nagymezőn található *M. rebeli* populáció viszonylag csekély egyedszámú. Egy ilyen populációnál az időjárási paraméterek jelentősen befolyásolhatják a mintavételezést. 2002-ben és 2004-ben a $\Phi(t)p(\cdot)$ (túlélés időben változó, visszafogási valószínűség konstans) modell írta le legjobban az adott év dinamikáját. 2002-ben száraz meleg, 2004-ben nagy hőmérséklet-ingadozások voltak. 2003-ban a $\Phi(\cdot)p(t)$ (túlélés konstans, visszafogási valószínűség időben változó) modell volt a legjobb, ebben az évben a hőmérséklet kiegyenlített volt.

SZÜNZO01-7

A tollatkák (*Acari: Astigmata*) eloszlása és dinamikája a vedlés függvényében a barkós cinege (*Panurus biarmicus*, L.) szárnytollain

Vágási István Csongor¹, Tökölyi Jácint²
 2004. biológus-geológus, III. évfolyam, biológus
 BBTE, Biológia és Geológia Kar, Rendszertan és Ökológia Tanszék
 témavezető: Pap Péter László

A madarak gazdaállatai számos ektoszimbionta ízeltlábúnak, melyek közül a tollatkák (*Acari: Astigmata*) képezik az egyik leggyakrabban előforduló és legváltozatosabb csoportot. Mivel a tollak felületén élő tollatkák nagymértékben alkalmazkodtak speciális élőhelyükhöz, a madarak vedlése befolyásolja a tollatkák életciklusát, ugyanis kis valószínűséggel maradnak életben, ha egy éppen kihulló tollon tartózkodnak. E veszély elkerülésére és a vedlés után megjelenő új tollak kolonizálására adaptív viselkedésmintázatok alakultak ki, azonban e jelenségről kevés ismeretünk van. Vizsgálatunkban a szárnytollak felületén élő tollatkák eloszlását és viselkedését tanulmányoztuk teljes nyári vedlést végző barkós cinegéken (*Panurus biarmicus*). Vizsgáltuk a tollatkák nemvedlő és vedlő madarakon való eloszlását, vedlő tollat elkerülő viselkedését és nyomon követtük a növekvő és a friss tollak általi kolonizálását. A tollatkák eloszlása eltérő volt vedlés előtt és vedlés után mind a fiatalok, mind az öregek esetében. E különbség leginkább a fiatal madarak kézevezőin levő tollatkák számának vedlés utáni, ugrásszerű növekedését jelentette. A vedlés előtt lévő öreg, valamint a vedlés utáni öreg és fiatal madarak esetében a tollatkák kétcsúcsú eloszlást mutattak az evezőtollakon, következetesen elkerülve a belső kéz- és a külső karevezőket. Eredményeink megegyeznek korábbi megfigyelésekkel, és azt bizonyítják, hogy az atkák képesek elhagyni a következőnek kihulló tollakat. A régi tollakon jóval kevesebb atka volt, mint az új tollakon, és e különbség a vedlés előtt és a vedlés után levő madarak teljes atkaterheltségében is szignifikáns volt. A vedlés után a tollak kolonizálása nagyon hamar lezajlott. Vizsgálatunk azt a folyamatot írja le és bizonyítja elsőként, hogy a tollatkáknál nem csak a vedlő tollak elkerülésére alakult ki adaptív mechanizmus, hanem az új tollak kolonizálására is. A tollatkák eloszlására, illetve vedlő tollat elkerülő és új tollat kolonizáló viselkedések mechanizmusára adunk lehetséges magyarázatokat.

SZÜNZO01-8

Szintetikus és természetes eredetű attraktánsok hatása rózsabogárfajok kémiai kommunikációjában (Coleoptera: Scarabaeidae: Cetoniinae)

Vuts József
 V. évf. biológus
 ELTE TTK Állatrendszertani és Ökológia Tanszék
 témavezető: Dr. Tóth Miklós

Az *Cetonia aurata* (L.) és a *Potosia cuprea* (F.) fajokra laboratóriumunkban az elmúlt években szintetikus csalogatóanyag-kombinációkat fejlesztettünk ki. Az előbbit a fenil-acetaldehidet, metil-eugenolt és transz-anetolt, az utóbbit pedig a feniletil-alkoholt, metil-eugenolt és transz-anetolt tartalmazó csapdák fogták a leghatékonyabban.

Fenti vizsgálatainkat folytatva arra voltunk kíváncsiak, hogy lehetne-e növelni az előbb említett attraktánsok hatását más illatanyagok hozzáadásával. Ezért 2004 tavaszától szeptember elejéig csapdázásos kísérleteket végeztünk egy Telki melletti vadrózsa-állományban, ahol mindkét faj nagy mennyiségben jelen volt. Első lépésben a szintetikus csalétek mellett almadarabokat is raktunk a csapdába, mert feltételeztük, hogy a gyümölcsből vagy az erjedéskor felszabaduló illatanyagok esetleg vonzó hatásúak lehetnek rájuk. Ez be is igazolódott, mivel az almát is tartalmazó csapdák jelentősen többet fogtak a csak szintetikus attraktánsot tartalmazóknál. Amikor csak almát tartalmazó csapdákat próbáltunk ki, azok, melyekben az erjedés nélkül megaszalódott, semmit sem fogtak, fogást csak azokban észleltünk, amelyekben erjedni kezdett. Emiatt feltételezhető, hogy az ezekre a bogarakra ható illatanyagok nem alma-specifikusak, hanem erjedéskor általában keletkező vegyületek. Ebből kiindulva kipróbáltunk lepkéknél illetve darazsaknál ismert csalogató hatással bíró vegyületeket (izo-butilalkohol, izo-amilalkohol és ecetsav elegye). Ezek kísérletünkben nem növelték a korábban talált szintetikus attraktáns hatását. A következőkben olyan további vegyületek hozzáadásának hatását ellenőriztük, amelyekről ismert, hogy felszabadulnak erjedési folyamatok során és egy észak-amerikai cserebogárfaj attraktánsaként is szerepelnek. Ez a valeriansav, hexánsav és oktil-butirát elegye, amely azonban szintén nem befolyásolta háromkomponensű attraktánsunk hatását.

További vizsgálatainkban tervezzük az erjedéskor az almából felszabaduló vegyületek izolálását és a virágbogarakra gyakorolt biológiai hatásuk ellenőrzését.

SZÜNZOO2-1

SZ

A f
baVá
20
BE
tér**A mezei nyúl (*Lepus europaeus*) őszi- téli tápláléka Magyarország öt különböző területén**

Demes Tamara, Nyeste Mariann
V. évf. biológus, V. évf. biológus
DE TTK Evolúciós Állattani és Humánbiológiai Tanszék, SZIE MKK Vadbiológiai és Vadgazdálkodási Tanszék
témavezető: Katona Krisztián, Dr. Lengyel Szabolcs

Európában a mezei nyúl egyedszáma drasztikusan lecsökkent az elmúlt évtizedekben. A folyamat egyik fő kiváltó oka a romló élőhelyi feltételek: azok rossz struktúrája a nagy, monokultúras, vegyszerezett táblákkal és ezáltal a táplálék variabilitásának csökkenése. Ugyanis a mezei nyúl számára az olyan élőhely kedvező, ahol változatos táplálékbázis és elegendő búvóhely található az év minden szakaszában. A termesztett növényfajok számának csökkenése és a termelési rendszerek kialakulása nagymértékben csökkentette az ilyen jellegű területeket.

Vizsgálataink célja az volt, hogy megvizsgáljuk a táplálékhiányos őszi végi-téli időszakban a mezei nyúl táplálékösszetételének jellegzetességeit, és ezek alapján élőhelyfejlesztési javaslatokat dolgozzunk ki. A mezei nyúl táplálékának összetételét 2000-2002 között öt különböző területen, őszi nyúl vadászatokon begyűjtött gyomortartalmak mikroszöveti analízise révén vizsgáltuk. A nyulak a több gyepterülettel rendelkező helyszíneken több növényfajt (10, 14) fogyasztottak, mint az intenzív mezőgazdasági területeken (7-14). Utóbbiakon a kultúrnövények fogyasztása magasabb volt, mint a jellemzően gyepek területeken (akár 45-58%). Ezek közül is a búza fogyasztása volt a legjelentősebb (esetenként 30-50%). A fás szárúak közül minden területen a bodzát fogyasztották a legnagyobb mennyiségben (akár 25-40%). A magok minden területen táplálék kiegészítőként kisebb hányadát jelentették a tápláléknak (1-11%).

Eredményeink alapján a mezei nyúl élőhelyének fejlesztése a változatos szerkezetű gyepek kialakításával, a fás foltokon és szegélyeken bodza telepítésével, míg a monokultúrákban, a búza előnyben részesítésével történhet meg. Szintén javasolt a vadföldök létesítése, és – ahol a fent említett növények vetésére nincs lehetőség – a kiegészítő takarmányozás. Az intézkedések révén a mezei nyulak mind az aratások utáni, 2-3 hétig tartó táplálékhiányos időszakot, mind a téli korlátozott táplálék- ellátottságú hónapokat könnyebben átvészelhetik.

SZÜNZOO2-2

A pirok erdei egér (*Apodemus agrarius*) populáció gyarapodásának becslése mozaikos élőhelyen

Tóth Brigitta, Fábán Eszter
V. évf. biológia, IV. évf. biológus
PTE TTK Zootaxonomiai és Szünzoológiai Tanszék
témavezető: Dr. Horváth Győző

Az elmúlt tíz év során rengeteg új módszert dolgoztak ki különböző populációdinamikai paraméterek becslésére. Erre fejlesztették ki a MARK számítógépes szoftvert, amelynek Pradel modelljeit használtuk a pirok erdeiegér populáció növekedési rátájának, illetve túlélésének becslésére.

Dél-Baranyában a Mattyi-tó menti mozaikos élőhelyen 7 éve végzünk kisméltó csapdázást a fogás-jelölés-visszafogás módszerével. Három, domborzatilag különböző felszínű, markánsan elkülönülő vegetáció struktúrájú területen jelöltük ki az egyenként 50x50 m-es csapdahálókat, melyek mindegyikén 121 db dobozcsapdát működtettünk. Az utóbbi két év (2002 és 2003) adatait dolgoztuk fel. Elsőként megvizsgáltuk a pirok erdeiegér (*Apodemus agrarius*) fogási és visszafogási értékeit kvadrátonkénti és havi illetve napi bontásban. A populációk méretét a zárt populációs modell felhasználásával becsültük meg. A becsléseket, illetve az adatok tesztelését öt csapdaéjszakára, valamint az öt napos csapdázások reggeli és esti fogási adatait külön kezelve kilenc fogási alkalomra végeztük el.

A korábbiakban már vizsgáltuk a pirok erdeiegér három kvadrát közötti mozgását. Esetünkben arra voltunk kíváncsiak, hogy van-e különbség az eltérő vegetációjú kvadrátokban élő populációk gyarapodásában. Ehhez a MARK program által felkínált négy Pradel-modell közül a "survival and recruitment" (túlélés és gyarapodás) modellt alkalmaztuk. Adatainkat az alapmodellre és belőle származtatható redukált modellekre teszteltük úgy, hogy a paraméterek (gyarapodás, túlélési ill. fogási valószínűség) lehettek időtől függőek, illetve időben állandóak. Az LR-tesztekkel összehasonlítottuk a különböző modelleket. Ha két modell nem tért el egymástól szignifikánsan, akkor a takarékosabbat (alacsonyabb AIC értéket) választottuk.

A modellezést a három kvadrátra, mint szubpopulációkra külön, valamint az egész területre vonatkoztatva is elvégeztük.

A kiválasztott takarékos modell becsült paramétereinek értékeit a három eltérő vegetációs struktúrájú élőhely alapján statisztikailag is összevetettük.

SZÜZOO2-3

Megtermékenyítési siker és spermiumtermelés a barna varangynál (*Bufo bufo*)

Hévizi Gergely
IV. évf. biológus
ELTE TTK Állatrendszertani és Ökológiai Tanszék
témavezetők: Dr. Török János, Hettyey Attila

A kételtűek szaporodásbiológiájával foglalkozó munkák nagy száma ellenére nem ismert, hogy a sikeres, egy nászidőszak alatt több párzást megszerző hímek megtermékenyítési képessége hogyan változik ismételt párzások során, valamint hogy a hímek spermiumtartalékai a nászidőszak alatt pótlódnak-e. E kérdéseket vizsgáltam a barna varangyon (*Bufo bufo*), ahol a nagy hímek egy nászidőszakon belül többször párzanak, mint a kis hímek, ebből azt várhatjuk, hogy ez a különbség a spermiumtermelésben is megmutatkozik. 2004 tavaszán egy terepi kísérlet során, vízzel megtöltött 110 literes dézsákban kis és nagy méretű hím varangyokat pároztattam háromszor egymás után, mindig új nőstényekkel, majd figyeltem a megtermékenyülési sikert. Kontrollként méretben hasonló hímeket tartottam ugyanolyan körülmények között, de pároztatás nélkül, a kísérlet teljes időtartama alatt (kontroll 1). A nászidőszak kezdetén, a kísérleti állatokkal együtt, gyűjtöttem olyan hímeket is, melyeket azonnal konzerváltam (kontroll 2). A kísérlet végén mindhárom hím-csoportnál meghatároztam a herékben található spermiumok számát. Vizsgálatomban nem csökkent a barna varangy hímek megtermékenyítési sikere ismételt párzások során, ugyanakkor ez a hím méretétől sem függött. Az ismételten pároztatott, a kontroll 1 és a kontroll 2 hímek heréinek relatív spermiumtartalma nem különbözött. Ebből arra következtetek, hogy a barna varangy hímek a nászidőszak során pótolni képesek a párzások alatt ürülő spermiumtartalékukat. A kis hímek spermiumszáma alacsonyabb volt a nagy hímek spermiumszámánál a kezeléstől függetlenül. Eredményeim szerint a barna varangynál a spermiummennyiség nem limitálja a szaporodási sikert.

SZÜNZOO2-4

Güzüegér (*Mus spicilegus*) várank denzitás becslése energiafű ültetvényeken

Kálmán Zoltán és Kokas Balázs
III. évf. biológus
PTE TTK Zootaxonomiai és Szünzoológiai Tanszék
témavezető: Dr. Horváth Győző

Magyarországon jelenleg a termelt villamos energia 0,9 százaléka származik megújuló energiaforrásból, és az ország számára meghatározott uniós kötelezettség a 3,6 százalékos mutató elérése. Ökológia adottságainak ismeretében e törekvésben a biomassza energetikai hasznosítása kaphatja a legfontosabb szerepet, ebben kiemelkedő jelentőség jut az energiafűnek, a magas tarackbúzának (*Elymus elongatus*). Magyarországon, a szarvasi kísérletek alapján már termesztik a bólyi agrártársaságnál az új pécsi biomassza-erőmű számára. A két méteres magasságot is elérő növény táplálékot és búvóhelyet biztosít az állatoknak, kiváltképp a kisemlősöknek. Kutatásunk elsődlegesen egy fajra, a güzüegérré irányult, amely faj jelenléte jellegzetes életmódbeli sajátága – a güzühordás építése – következtében könnyen felfedezhető. Várank ősztől tavaszig megtalálhatók élőhelyeiken, így ezek számlálásával a relatív populáció denzitás hatékonyan becsülhető.

Az energiafű ültetvényeken a kisemlősök számára fontos élőhelyeknek számítanak, és mivel évente egyszer kaszálják, a magasra megnövő vegetáció megfelelő és hosszan tartó borítást biztosít a különböző kisemlős populációk számára. Így az energiafűves területek kisemlős szempontú vizsgálatában a jellemző fajok populációdinamikai monitorozása, a mozgási mintázatok elemzése és a különböző területek közösségi ökológiai összehasonlítása a célunk. A mezőgazdaságilag művelt területek esetében a változások detektálásánál modell értékű faj a güzüegér. A várank feltérképezésével a populáció létszáma indirekt becsülhető.

Jelen dolgozatban a kutatási programunk első lépésének eredményeit foglaltuk össze, amelyben alapvető célunk volt e modell értékű kisemlősfaj sűrűségének indirekt becslése. A felmérést a bólyi agrártársaság görcsönyi és nagynyáradi energiafű ültetvényén végeztük, amely során a várank feltérképezéséhez a távolsági mintaelemzést (distance sampling) alkalmaztuk. A két mintaterületen véletlenszerűen 3-3 vonaltranszekt (*line transect*) jelöltünk ki, amelyekkel egyenként 100x200 méteres területen vettük fel a várank távolsági adatait. A kapott adatokat a Distance 3.5 programcsomaggal dolgoztuk fel, amellyel a távolsági adatokból közvetlenül becsülhető a várank 1 ha-ra eső sűrűsége.

Különböző területeken a következő adatok kerültek kiértékelésre. Görcsönyben az első transzektben 37, a másodikban 35, a harmadikban 38 güzüvárat találtunk. Nagynyárádon az elsőben 132, a másodikban 88, a harmadikban szintén 88 vár volt.

SZÜNZOO2-5

A legelésző állatok boróka fogyasztása a Kiskunsági Nemzeti Parkban

Markó Gábor

V. évf, kertészmérnök

BCE KK, ¹ELTE TTK Etológia Tanszék, ²BCE KK Gyógy- és Aromanövények Tanszék, ³BCE KTK Genetika és Kertészeti Növénynevelés TanszékTémavezetők: Dr. Altbácker Vilmos¹, Dr. Bernáth Jenő², Dr. Bisztray György³

A növényevők a szelektív rágásukkal az adott társulás szerkezetét és összetételét igen jelentősen befolyásolhatják. A rágás következtében a növényeknek védekező mechanizmusa alakult ki, ami a borókák esetében az illóolajokban lévő terpének és származékainak felhalmozódása. Mostani vizsgálatainkban arra kerestük a választ, hogy a borókák az illóolajtartalmuk mennyiségi és-vagy a minőségi összetételével védekeznek a rágás ellen. A hazai borókásokban élő üreginyulak (*Oryctolagus cuniculus*), illetve birkák a közönséges boróka (*Juniperus communis*) fogyasztását vizsgáltuk a Kiskunsági Nemzeti Parkban. Korábbi megfigyeléseinkből tudjuk, hogy a borókákat Bugacon nyulak, Orgoványban birkák, míg Bócsán egyik faj sem rágja. A három terület boróka koreloszlását összehasonlítva azt kaptuk, hogy a borókák szaporodását és túlélését a rágás fajtája alapvetően befolyásolja. Orgoványban a rágottság mértéke tükrözte a rágási nyomást, jóval több volt a rágott boróka egy juhodály környékén, mint az erdő alkalmilag legeltetett belsejében. Az orgoványi borókák közül a birkák által erősen rágott terület növényeit tovább vizsgáltuk. Olyan egyedeket (n=10-10) választottunk ezért, amik alsó ágait az előző években a birkák fogyasztottak illetve elkerültek. Ezen növények tetejéről származó ágmintákat kínáltuk fel házinyulaknak egy kétutas táplálékválasztásos tesztben. Megtudtuk, hogy a házinyulak különbséget tettek az ágak között, többet ettek a birka által is rágott borókák hajtásaiból. Ismeretes volt, hogy házinyulak két különböző illóolaj tartalmú boróka faj közül az alacsonyabb illóolaj tartalmút, (így kevésbé mérgezőt) választották. A fenti ágminták olajtartalmát elemezve kitudtunk, hogy az orgoványi borókabokrok illóolaj tartalma csak egyes szezonokban volt szignifikánsan különböző a rágott és nem rágott bokrok között. A hajtások illóolajainak gázkromatográfias analízise szerint azonban egyes különösen erősen baktericid komponensek mennyisége eltérő a rágott és nemrágott borókákban, így lehetséges, hogy ezen vegyületek befolyásolták a választást.

SZÜNZOO2-6

Az időjárás hatása a barna varangy (*Bufo bufo* L.) szaporodására

Muraközy Anna

IV. évf. agrármérnök

SZIE MKK Állattani és Ökológiai Tanszék

témavezető: Dr. Kiss István

A barna varangy (*Bufo bufo*) az egyik legelterjedtebb védett kétéltű faj Magyarországon. Változó testhőmérsékletű állat révén az éghajlati tényezők fontos szerepet töltenek be viselkedésében, életfolyamataiban. Egyes kutatók megfigyelései arra engednek következtetni, hogy a globális felmelegedés és a szélsőségek megjelenése okai lehetnek néhány kétéltű faj állományának hanyatlásának, illetve kipusztulásának. Hosszútávú megfigyelésük ezért feltétlenül figyelmet érdemel.

Célul tűztük ki, hogy feltárjuk az időjárás változása és a varangyok szaporodási sajátosságai, egyedszám változása, testméreteinek alakulása között fennálló összefüggéseket, és kimutassuk, melyek a legfontosabb befolyásoló tényezők.

A megfigyeléseket a Gödöllői Dombvidék Tájvédelmi Körzetéhez tartozó babati törendszer területén végeztük 1989-től 2002-ig. A szaporodási időszakban gyűjtöttük be a tóhoz érkező, illetve a tóban lévő egyedeket. A befogott állatok ivarát megállapítottuk, fontosabb testméret adataikat (testtömeg és testhosszúság) felvettük. Az időjárás adatokat az egyetemi meteorológiai állomás szolgáltatta. Ezek közül a lég- és talajhőmérséklet, valamint a csapadék adatait használtuk fel az elemzésekhez. Két szaporodás között eltelt periódust olyan időintervallumokra osztottuk, melyek lefedték a varangyok éves életciklusának egyes szakaszait.

Eredményeink alapján a három időjárás tényező közül – a kapcsolatpárok döntő hányadában – a talaj hőmérsékletének változása bizonyult a leginkább meghatározónak. A léghőmérséklet önmagában a szaporodás alatt annak időtartamát befolyásolta egyértelműen, a csapadék szerepe azonban csak a másik két időjárás tényezővel együtt éreztette hatását. Az elemzésekből az is kiderült, hogy az egyedszámra az időjárás tényezők átlaga és szórása is hatással van, míg a testtömeg alakulása az időjárás adatok átlagával, vagy szórásával állt szorosabb kapcsolatban. A szaporodás kezdetét leginkább a két szaporodás közötti teljes ciklus időjárás tényezőinek átlaga befolyásolta. A hibernáció időszakában a 0°C alatti napok részaránya azt határozta meg, hogy a fagymentes időszaktól hány nap telt el a szaporodás kezdetéig. A szaporodás megkezdésével a léghőmérséklet halmozott összege volt a legfontosabb tényező.

A barna varangy szaporodási sajátosságaira nagymértékben hatnak az időjárásban bekövetkezett változások, a közöttük lévő rendkívül összetett kapcsolat azonban még több megfigyelést, kutatást igényel.

SZÜZOO2-7

A gímszarvas (*Cervus elaphus*) rágásának vizsgálata a hajósszentgyörgyi erdőben

Nyeste Mariann, Demes Tamara

V. évf. biológus

DE TTK Evolúciós Állattani és Humánbiológiai Tanszék

témavezető: Katona Krisztián, Dr. Lengyel Szabolcs

Kutatásunk célja a gímszarvas (*Cervus elaphus* L., 1758) táplálkozási szokásainak minél pontosabb megismerése egy erdei-mezőgazdasági élőhelyegyüttesben. Előzetes kutatások kiderítették, hogy a gímszarvas elsősorban a cserjeszint fásszárú növényeit fogyasztja, ezért célul tűztük ki ezen növényfajok elérhetőségének meghatározását, a szarvas által leginkább preferált fajok azonosítását, az évszakonkénti táplálékpreferencia összehasonlítását, illetve az állatok területhasználati intenzitása és a cserjeszint rágottsága közti összefüggések vizsgálatát a hajósszentgyörgyi erdészeti területén.

Vizsgálatainkban erdei és mezőgazdasági területen szezonálisan végeztünk rágásfelmérést, mely során 50 m-enként feljegyeztük az ott található vegetációt, valamint felírtuk az összes látott vadcsapást, -fekhelyet, -hulladékot, és egyéb, vad jelenlétére utaló jelet. A mintavételi helyeken növényfajonként megszámláltuk a szarvas számára elérhető fásszárú vegetáció hajtásait, és megállapítottuk, hogy ezekből mennyi volt rágott. Az így szerzett adatokból minden fajra rágottsági és előfordulási arányt számoltunk.

Eredményeink igazolják a cserjeszint fontos szerepét a szarvas táplálkozásában. Az erdőben legnagyobb mennyiségben akácot és bodzát fogyasztottak, időszakosan megjelent a táplálékban a fenyő, az ostorfa és a kókény is. A mezőgazdasági területeken is zömmel a fásszárúak szerepeltek a táplálékban, ezek közül a fűzfajok és a veresgyűrűs som emelkedtek ki. Az elérhető táplálék mennyisége és a rágottság mértéke illetve a területhasználat intenzitása és a rágottság mértéke között nem találtunk jelentős összefüggést. Eredményeink felhasználhatóak természetközeli gazdálkodásmódok gyakorlati kialakításához.

SZÖNZOO2-8

A nyestek (*Martes foina*) elterjedése, és táplálkozási szokásai Budapesten

Szenczi Péter

V. évf. biológus

ELTE TTK Állattrendszertani és Ökológiai Tanszék

témavezető: Dr. Tóth Mária

A nyestek budapesti városiasodásának monitorozását 1996-ban kezdtük el. Céljaink között szerepelt az urbanizált nyestek táplálkozási szokásainak vizsgálata, valamint a városi terjeszkedés mértékének megismerése, mivel a folyamat az utóbbi évtizedben látványosan felgyorsult, és átfogó vizsgálat eddig még nem született. A felmérés Budapest 525 km²-es közigazgatási területén, lakossági bejelentések feldolgozásán, ellenőrzésén alapult. A begyűjtött ürülék- és szőrmintákat analizáljuk, az igazolt észleléseket térképen rögzítjük. Az elterjedési felméréseink 144 igazolt előfordulást tartalmaznak, 19 kerületből. Több száz ürülmintát vizsgáltunk, a konkrét összehasonlító mintaelemzések 4 területen történtek. Megállapítható, hogy a városi terjeszkedése nem vezethető vissza a természetes élőhelyek csökkenésére, mivel a nyest az egész országban elterjedt, gyakori kisragadozó. Városi térhódítására jellemző, hogy gyakorlatilag az ember közvetlen környezetében él, de búvóhelyei gyakran megközelíthetetlenek, nehezen felfedezhetőek. Az épületek tető- és padlasterében, álmennyezetekben, csőrendszerekben közlekedik, és a felméréseink szerint nem kötődik az ún. zöld folyosókhoz. Elérték a város legbelső területeit is, és szervesen beépültek a különleges, nagyrészt feltáratlan táplálékhálózatba. A táplálékbázis-vizsgálatok alapján arra következtethetünk, hogy a betelepülés nem a városi környezetben fellelhető táplálékforrások miatt ilyen intenzív, inkább búvóhelyek nagy száma meghatározó. Az urbanizált nyestek kétségtelenül fogyasztanak konyhai hulladékot, de ez inkább csak egy alternatíva az adott terület által meghatározott étrendjükben. Ugyanakkor egy enyhe csökkenés is megfigyelhető a táplálékdiverzításban. Jellemzően a foltszerűen, nagy sűrűségben hozzáférhető táplálékforrásokat használják, étrendjükben nagyobb szerepet kapnak a növényi részek. Ilyen például a díszfának ültetett keleti ostorfa (*Celtis occidentalis*) termése, amely meghatározó táplálékuk. A nyestek urbanizációjának sikere elsősorban különleges alkalmazkodóképességüknek, a nagyobb ragadozók és kompetítorok hiányának és a sikeres szaporodásuknak köszönhető.

TAX-EVOL-1

Az északi pocok mtDNS kontroll régiójának elemzése

Ifj. Antal Ferenc

V. évf. biológus

PTE TTK Genetikai és Molekuláris Biológiai Tanszék

témavezető: Dr. Putnoky Péter

Az északi pocok (*Microtus oeconomus*) egy 23 alfajjal rendelkező holarktikus elterjedésű rágcsáló, az egyetlen *Microtus* faj, amely egyaránt előfordul Észak-Amerikában és Euráziában. Az utolsó eljegesedés idején Európában egyetlen nagy, egyesült populációban élt a mai Közép-Európa jelentős részén. A jégtakaró visszahúzódásával a habitat északi és keleti irányban kiszélesedett, hátrahagyva számos lefűződött reliktum populációt. Magyarországon fokozottan védett, lokálisan veszélyeztetett, fragmentálódott és izolálódott populációkban fordul elő. Napjainkban csak 3 fennmaradt populáció található a Nyugat-Dunántúlon, amelyek a *M. oeconomus méhelyi* alfajt reprezentálják. A genetikai variációk tanulmányozása kiemelkedő fontossággal bír a célpopulációk jellemzése szempontjából. A hazai populációk genetikai összetételéről jelenleg nem áll rendelkezésre adat.

A genetikai variációk vizsgálatához a mitokondriális DNS (mtDNS) egyes szakaszainak elemzése is alkalmas. A mitokondriális genom kevésbé védett a mutagén hatásokkal szemben és a mitokondriumból hiányzik az exciziós javító rendszer is. Ezért adott idő alatt több mutáció halmozódhat fel benne, mint a nukleáris genomban. A leghosszabb nem kódoló szakasz az 1000-1600 bázis hosszúságú kontroll régió (D-loop). Az itt létrejövő összes mutáció rögzül, mivel erre a területre nem nehezedik szelekciós nyomás. Ezért a D-loop különösen alkalmas a populációk genetikai változatosságának vizsgálatára.

Célunk a teljes kontroll régió DNS szekvenciájának meghatározása, és hazai populációkban található változatok megismerése. Elsőként meghatároztuk az mtDNS mintegy 1860 bp hosszúságú szekvenciáját, mely a 908 bp hosszú kontroll régió mellett tartalmazza a tRNA^{Phe} és a 12S rRNS géneket is. A korrekt szekvencia ismeretében, fajspecifikus primerekkel, nyolc egyedből meghatároztuk a kontroll régió bal oldali felének szekvenciáját. Ezek elemzése nem tárt fel egyetlen eltérést sem, ami a vizsgált populáció alacsony genetikai változatosságára utal. A teljes kontroll régiót összehasonlítva más rokon fajok hasonló szekvenciájával megállapítottuk, hogy a jobb oldali régióban kétszer több az eltérő bázisok száma. Ezért elemzése valószínűleg érzékenyebb populációgenetikai vizsgálatokat tesz lehetővé. A kontroll régiótól 3' irányban elhelyezkedő 12S rRNS gén szekvenciájának meghatározása a fajok közötti rokonsági vizsgálatokhoz szolgáltathat jó alapot a jövőben.

TAX-EVOL-2

***Synergus umbraculus* (Hymenoptera: Cynipidae: Synergini) populációk genetikai differenciációja**

Bihari Péter

IV. évf. biológus

SZTE TTK, MTA SZBK Genetikai Intézet

témavezető: Dr. Pénzes Zsolt

A gubacsdarazsak (Hymenoptera: Cynipidae) többsége javarészt *Quercus* fajokon képez gubacsot (Cynipini), azonban 10-15 százalékuk az evolúció során elvesztette gubacs indukáló képességét (Synergini), fitofág lárvájuk más gubacsképző fajok mellett "társbérlióként" (inquiline) fejlődik. A hazánkban is előforduló *Synergus umbraculus* ez utóbbi csoportba tartozik, közel 30 rendszeres, tölgyhöz kötődő gazdával bír. Ellentétben a gubacsképző fajokkal, róluk jóval kevesebb ismerettel rendelkezünk.

A gubacsképző fajok részletes, Európa léptékű filogeográfiája az elmúlt években került közlésre, illetve több fajra részletes populációgenetikai elemzések is ismertek. Ennek tükrében a társbérliókkal kapcsolatban is számos kérdés merül fel. Elsődleges célunk egyrészt megvizsgálni, hogy (1) kimutatható-e gazdák szerinti genetikai differenciáció, amely egy ritka vagy korai gazdaváltásra utal (genetikai rassz), illetve (2) milyen mértékű a populációk közötti genetikai eltérés.

Az ország 13 különböző területéről gyűjtött, 16 gubacsképző faj mellől kinevelt egyedeket hasonlítottunk össze. A várt eredményekhez a mtDNS variabilitása elegendő felbontást biztosít, vizsgálatainkhoz egy széles körben használt 433 nukleotid hosszúságú citokróm b szakaszt szaporítottunk fel PCR technikával. A fragmentumok nukleotid szekvenciáját meghatároztuk, amelyből a genetikai differenciációra következtítettünk. A vizsgált génszakasz nagy variabilitását tapasztaltuk, mely gyors evolúcióval jár együtt, azonban Cynipini gazdára specifikus rasszok kialakulására nincs bizonyítékunk.

A térbeli heterogenitás hatása a mutualizmus evolúciójára

Boza Gergely
okl. biológus (2004.), V. évf. biológia
ELTE TTK Növényrendszertani és Ökológiai Tanszék
témavezető: Dr. Scheuring István

A legújabb becslések szerint a Földön minden egyes faj részt vehet legalább egy mutualista kapcsolatban, mégis hosszú időn át csekély figyelmet kapott. Evolúciójának és stabilitásának magyarázata is megválaszolatlan kérdésnek számít. A kölcsönösen előnyös kapcsolatok kutatása a mutualizmus problematikájához nagyon hasonló intraspecifikus kooperáció témája kapcsán fejlődött, dolgozatomban is ebből az elméleti háttérből indul ki.

Munkám során az interspecifikus mutualista interakciók evolúcióját és stabilitását, a kölcsönható fajok egyes fenotípusainak koevolúcióját vizsgáltam számítógépes szimulációk segítségével. A szimuláció alapjául szolgáló modell Doebeli és Knowlton munkája [Proc.Natl. Acad. Sci., 95: 8676-8680, 1998], mely elsőként alkalmazott két különböző faj közt létrejövő, kölcsönösen előnyös kapcsolat modellezésére a kooperációkutatásban már elterjedten használt játékelméleti módszereket. A szerzőpáros eredményei azt mutatták, hogy a térben explicit, sejtautomata modellben az együttműködés létrejöhet, és stabilan fennmaradhat bizonyos paramétertartományban. Munkám során a modell viselkedését vizsgáltam heterogén háttérkörnyezet figyelembevételével.

Eredményeim szerint a rendszer viselkedése jelentős mértékben változott az eredeti, homogén modellhez képest. Egyrészt a térbeli heterogenitás szegregáló szerepe, a megnövekedett élőhelyi polimorfizmus megnövekedett fenotípusos diverzitást von maga után. Ez a diverz rendszer kisléptékű időskálán stabil térbeli képződményeket alakít ki, így egy dinamikus változó, de sokszor statikus struktúrákból felépülő életteret kapunk. Ezáltal többféle fenotípus (stratégia) élhet egymás mellett hosszú időn keresztül. A tapasztalt jelenség segít a mutualista interakciók kialakulásában és stabilizálódásában. Ezenfelül lehetőségem nyílt a modellben megfigyelni számos egyéb jelenséget, például a Red King hatást, a mutualizmus kizsákmányolását stb., melyek közelebb visznek a mutualista interakciók evolúciójának és stabilitásának megértéséhez.

A *Cryptococcus neoformans* fajkomplex mitokondriális DNS-ének molekuláris elemzése

Dobos Nikoletta
V. évf. biológus
SZTE-TTK, Mikrobiológiai Tanszék
témavezetők: Dr. Kucsera Judit, Litter Judit

A *Cryptococcus neoformans* basidiomycota élesztőgomba, amely - elsősorban immunszuppresszált egyéneknél - cryptococcosis-t okozhat. Egyik legfontosabb virulenciafaktora a sejteket körülvevő vastag tok. A tokpoliszacharidok immunológiai tulajdonságai alapján ötféle szerotípust (A, B, C, D, AD) különítenek el, és ezeket ma három varietasba sorolják: *C. neoformans* var. *grubii* (A), *C. neoformans* var. *gattii* (B,C), *C. neoformans* var. *neoformans* (D, AD).

A *C. neoformans* fajkomplex molekuláris elemzésével (ITS szekvencia, RAPD analízis, PCR fingerprinting) Katsu és munkatársai nyolc alcsoportot tudtak megkülönböztetni (VG I.-VG IV, VN I.-VN IV.). Vizsgálataink céljából tűztük ki a nyolc altípus mitokondriális genomjának molekuláris analízisét, felhasználva a tanszékünkön már korábban elkészült, két, különböző varietasba tartozó törzs (*C. neoformans* var. *neoformans* IFM 5844, illetve a *C. neoformans* var. *grubii* IFO 410) részletesen elemzett mitokondriális DNS-ének adatait. Ezen két törzs mtDNS-ében mutatózó legfőbb méretbeli különbségeket szekvenciavizsgálatok alapján a *cox1*, *cob*, *nad5* és *ml* génekben, illetve az *atp6-9* intergénikus szakaszban találhatjuk. Az eltérő területekre írt specifikus primerek felhasználásával PCR-analízist alkalmaztunk a különböző genotípusú csoportok elkülönítésére. Az egyes PCR termékek azonosítását Southern-hibridizációval végeztük, szekvenciaszintű analízisük pedig jelenleg folyik.

Eredményeink alapján megállapítottuk, hogy a két referenciatörzs, melyeknek korábban csak a szerotípusát ismertük, besorolható egy-egy molekuláris típusba. A *C. neoformans* var. *neoformans* IFM 5844 a VN IV., a *C. neoformans* var. *grubii* IFO 410 pedig a VN I. molekuláris típusba tartozik. Továbbá megfigyelhető, hogy a *nad5* és *cox1* régió mérete minden törzs esetében megegyezik a két referenciatörzs valamelyikével. A többi régióban jelentős méretbeli eltéréseket figyeltünk meg. A különbségeket intronok jelenlétével illetve hiányával magyarázzuk.

Párosodási típusokhoz való kötöttséget nem tudtunk megállapítani. A szerotípusok vizsgálatakor az öt régió egyértelmű szerotípushoz való kötöttségét sem tudtuk kimutatni.

TAX-EVOL-5

Ökológiai szempontból jelentős gombacsoport molekuláris taxonómiai vizsgálata

Erős Zsolt
2004. biológus
ELTE TTK Növény szerzettani Tanszék
témavezető: Dr. Jakucs Erzsébet

Célunk egy olyan gombacsoport (szemölcsogombák rendje - Thelephorales Corner ex Oberw.) molekuláris taxonómiai alapokon nyugvó áttekintése volt, melynek ezidáig csak morfológiai bélyegek segítségével felállított rendszereit említi az irodalom. Az egyes nemzetségekre kiterjedő újabb molekuláris eredmények ismeretében azonban indokoltá vált a taxon DNS-szekvenciákon nyugvó felülvizsgálata.

Munkánkhoz a fajok nukleáris riboszomális operonjának 5,8 S rDNS-ét közrefogó, átíródó spacer régióinak (ITS1, ITS2) nukleotid-szekvenciáit vettük alapul, melyekhez a világhálón elérhető GenBank molekuláris adatbázisból jutottunk hozzá. Az illesztést ClustalX programmal, a filogenetikai vizsgálatokat SYN-TAX 2000 programcsomaggal és a PAUP* programcsomag 4.0 beta verziójával végeztük. A távolságmátrix segítségével lefuttatott – s elsősorban az ökológiában használt – főkoordináta-analízis (PCoA) felhasználásával kapott, egymáshoz közel álló szekvenciákból álló csoportok helytállóságát nem-hierarchikus módszerekkel (globális optimalizálás) kapott eredmények és minimális feszítőfa segítségével ellenőriztük. Emellett távolságon alapuló (neighbour joining módszerrel előállított) és karakteralapú (a parsimónia-elven nyugvó) filogenetikai fákat is konstruáltunk. Végezetül az említett módszerek eredményeit összegeztük és értékeltük.

A vizsgált génszakasz szerint elkülönülő csoportok több ponton ellentmondanak a korábbi, anatómiai karaktereken alapuló rendszereknek. Egyrészt a rend két fő családjának (Bankeraceae Donk és Thelephoraceae Chev.) tagjai nem úgy csoportosulnak, ahogyan az az eddigi törzsfák alapján várható; ezen túl az utóbbi családban a korábbi morfológiai alapon felállított két alcsalád (Thelephoroideae Pers. és Tomentelloideae Svrček) tagjai sem követik a hagyományos tagolódást. Végezetül alnemzetségek szintjén (gen. *Tomentella* Pers. ex. Pat. subg. *Tomentella* és subg. *Alytosporium* (Link) Køljalg) is találtunk az eddig elfogadott rendszereknek ellentmondó klasztereket.

TAX-EVOL-6

Kárpát - medencei szőlőfajták vizsgálata DNS-markerekkel

Járomi Luca
IV. évf. biológia-környezettan
PTE TTK Növénytan Tanszék
témavezető: Dr. Kocsis Mariann

A szőlő már az ókorban ismert volt haszonnövényként, napjainkban is igen nagy gazdasági jelentőséggel bíró növény. Számos fajtáját termesztik világszerte, a belőlük készülő bortermékek jelentős kereskedelmi szerepe mindenki által ismert. Hazánk borvidékeinek hírneve a fajták kiváló tulajdonságainak köszönhető.

Vizsgálatainkkal egy átfogó terv megvalósításába kezdünk, amelyben a kárpát-medencei őshonos szőlőfajtáink molekuláris meghatározását tűztük ki célul. A hazai fajtákat molekuláris biológiai eljárásokkal azonosíthatjuk, valamint rokonsági kapcsolataikra is fény derülhet. A legtöbb Európai Unió ország rendelkezik az őshonos szőlőfajták genetikai leírásával, amely az ampelográfiai leírást egészíti ki egy megbízhatóbb molekuláris jellemzéssel. Vizsgált szőlőfajtáink hazánk legnagyobb génbankjából, az FVM Pécsi Szőlészeti és Borászati Kutatóintézet gyűjteményéből származnak. Első lépésként 12 fehérborszőlőfajtával végeztünk két molekuláris markerezési eljárást: RAPD (random amplifikált polimorf DNS) és mikroszatellit - analízis. A 12 fajta genomi DNS-ét fiatal levelekből izoláltuk a Quiagen Mini Kit protokoll alkalmazásával. A RAPD kísérletben a fajtákat 40 dekamer primerrel teszteltük, ezek közül 28 adott megbízhatóan kiértékelhető mintázatot, összesen 120 polimorf sávval. Az adatok értékelése (genetikai távolság mátrix, dendrogram) a RAPDistance és a SYN-TAX 5.0 programcsomaggal történt. A mintákon összesen 5 mikroszatellit primerpárt teszteltünk. A kapott gélek vizuális értékelése során az adott mikroszatellit régió bázispár-hosszúságát és az allélszámot kaptuk meg a vizsgált fajták körében.

Eredményeink alapján megállapítottuk, hogy a RAPD és mikroszatellit markerek jól használhatók a 12 fajta meghatározására, elkülönítésére és rokonsági kapcsolataik megállapítására.

Terveink közt szerepel további fajták, további primerekkel történő vizsgálata. Eredményeink segítségével egy olyan megbízható adatbázist készítünk, amely a hagyományos ampelográfiai leírás mellett a szőlőfajták genetikai jellemzését tartalmazza. Hazai fajtáink megőrzése, jobb megismerése, nagyon fontos a nemesítés számára, szociális-ökonómiai okokból, valamint a kulturális hagyományok megőrzése miatt.

TAX-EVOL-7

Prebiotikus replikáz-evolúció sejtautomata modellezése metabolikus rendszerben

Könnyű Balázs
2004. biológus
ELTE TTK Növényrendszertani és Ökológiai Tanszék
témavezető: Dr. Czárán Tamás

A korai (prebiotikus) evolúció egyik legmakacsabb problémája: rövid genom nem kódolhat olyan enzimet, amely a genom másolásának pontosságát növeli, e nélkül viszont nem lehet hosszabb genomot másolni (Eigen-paradoxon). A paradoxon feloldására háromféle modell született. A hiperciklus modellben rövid replikátorok (replikációra képes molekulák) képesek együtt élni, ha egymás másolását specifikusan segítik körkörös kölcsönhatás-topológiában (Eigen 1971). Sajnos a hiperciklus minden változatát kipusztítják a felbukkanó parazita-szekvenciák.

A második modell-típusban rövid replikátorok együttélése fenntartható a replikációhoz szükséges monomereket előállító anyagcserével, valamilyen térbeli struktúra segítségével (pl.: agyagásvány-felszínhez kötötten). A replikátorokról feltételezik, hogy önreplikációra és saját monomerjeik előállítására képesek. Így bármelyik replikátor eltűnése monomerek szintézisének megszűnését, és a rendszer összeomlását eredményezi. Sejtautomata modellben az ilyen replikátorok széles paramétertartományban együtt élnek, és a parazitákkal szemben is rezisztensek, bár azokat teljesen kiszorítani nem képesek (Czárán és Szathmáry, 2000).

A paradoxon feloldásának harmadik modellje szerint a replikátor kezdetben gyenge replikáz-aktivitása mutáció-szelekció révén fokozatosan erősödik. Így egyre hosszabb szekvenciákat tud gyorsabban és pontosabban másolni (Scheuring, 2000). Ha az utód-molekulák a szülő-szekvencia közelében maradnak, akkor elsősorban saját „klónjaik” replikációját segítik, ami szelekciós előnyt biztosít a jobb (és hosszabb) replikázoknak. Ha a rendszer erősen keveredik, akkor elárasztják és meg is semmisíthetik a paraziták (Szabó et al., 2003).

Munkánk célja a második és a harmadik modell egyesítése: a metabolikus modellben perzisztens, de lényegében ártalmatlan paraziták szabadon evolválódnak két tulajdonságukra nézve (templát-minőség és replikáz-aktivitás), a harmadik modell-típus mechanizmusa szerint. A két tulajdonság trade-off viszonyban áll egymással: ha az egyik nő, a másik mindenképpen csökken. Eredményeink: *i*, az egyesített rendszer a paraméterterület jelentős részében koegzisztens; *ii*, a trade-off függvény reálisnak tekinthető paraméterei mellett a parazita-szekvenciák mindkét tulajdonsága a nagyobb értékek felé evolvál; *iii*, a pozitív szelekció a templát-minőségre közvetlen, a replikáz-aktivitásra részben közvetlen, részben közvetett hatást gyakorol; *iv*, a keveredés nem árt a rendszernek, mert a parazitákat a metabolikus kapcsolat kényszere féken tartja.

Czárán & Szathmáry: *Cambridge Univ. Press. Cambridge* (2000).
Eigen.: *Naturwissenschaften* **58**, 465 – 523 (1971).
Scheuring: *Selection* **1-3**, 135 - 145
Szabó et al.: *Nature* **420**, 340 – 343 (2002).

TAX-EVOL-8

A *Bambusoideae* alcsalád jellemzése molekuláris markerekkel

Mózes Johanna
V. évf. kertész mérnök
BCE KTK Genetika és Kertészeti Növénynevelés Tanszék
témavezetők: Dr. Velich István, Dr. Bisztray György Dénes, Szabados Antal,
Deák Tamás

A bambuszok az ázsiai földrészen gazdaságilag nagyon fontos növények, univerzális alapanyagként alkalmazzák száraikat, a rizs után a második alapvető élelmezési eikk. A mérsékelt övi területen azonban még csak dísnövényként való felhasználásuk terjed. Az európai éghajlatot hozzávetőlegesen 50 faj és fajta viseli el, azonban ezek közül csak néhányat ismerünk, illetve ezek sincsenek rendszertanilag pontosan meghatározva. Mivel morfológiai bélyegeik alapján rendkívül nehéz a bambuszok elkülönítése – főleg fiatal korban-, ezért alkalmaztuk a molekuláris markerekkel történő identifikálást. A RAPD-PCR technikával a polimorfizmus mértékét kívántuk meghatározni a 26 mérsékelt övi bambusztaxon esetén, a mikroszatellit-analízissel a taxonok azonosítását terveztük. A RAPD-technikával a bambuszok jelentős polimorf jellegét sikerült kimutatni. Az ezt követő mikroszatellit-analízist a Poaceae család tagjain vizsgált primerrel végeztük, mivel nem találtunk a *Bambusoideae* alcsaládra kifejlesztett specifikus primereket. A felhasznált 8 primerpár közül kettőt alkalmaztunk sikerrel. Az eredmények alapján néhány taxon esetében kétségesé vált az aktuális nomenklátúra pontossága.

TAX-EVOL-9

**Páncélosatka (*Oribatida*) genuszok rokonsági kapcsolatainak vizsgálata
28S rDNS nukleotid sorrend alapján**

Prazsák István
V. évf. biológia-környezettan
SZTE TTK Genetikai és Molekuláris Biológiai Tanszék
témavezető: Dr. Maróy Péter

A páncélos atkák (*Oribatida*) az atkák (*Acar*) alosztályának fajokban leggazdagabb és alakjukban legváltozatosabb rendje. Az Oribatidák fosszilis képviselői a devontól ismertek. Az egész Földön elterjedtek. A több mint tízezer eddig leírt fajból 477 előfordulását igazolták eddig Magyarországról. Ezek jól reprezentálják rendszerük fő csoportjait. A páncélos atkák egyedszáma a talajban igen nagy, szerepük a biológiai lebontásban nélkülözhetetlen. Jelenlegi rendszerüket morfológiai bélyegek alapján a határozás szempontjából öt, taxonómiailag hét nagy csoportra bontják. Ezen rendszer rokonsági kapcsolatainak molekuláris markerekkel történő vizsgálata egymáshoz viszonyításához a 28S riboszomális DNS szekvencia D3 régiójának 150 bázispár hosszú részletét választottuk. A 28S rDNS-t széles körben alkalmazzák molekuláris taxonómiai elemzésekhez. Az általunk választott 28S rDNS szekvencia részlet konzervatív és variábilis szakaszokat tartalmaz, amik külön-külön vizsgálva alkalmasak nagy és kis rendszertani csoportok összehasonlítására. A 28S rDNS szekvenciák nagy kópiaszámban vannak jelen, ezért amplifikálásuk PCR reakcióval olyan kisméretű élőlények esetén is alkalmas, mint a páncélos atkák.

36 28S rDNS szekvenciából fákat generáltunk. Faépítő algoritmusnak a NJ (Neighbour Joining), MP (Maximum Parsimony), és ML (Maximum Likelihood) módszereket alkalmaztuk.

A genuszok 28S rDNS szekvenciáinak nagyobb részének hasonlósága megegyezik a morfológiai rendszerből következő rokonsági viszonyokkal. Azonban számos eltérést is találtunk. Ezek bizonyos nagy csoportokat több részre bontanak, illetve a hagyományos rendszertől eltérő rokonsági körbe helyeznek egyes genuszokat.

TAX-EVOL-10

**A *Salsola kali* L. molekuláris genetikai vizsgálata AFLP-markerek segítségével:
biogeográfiai vonatkozások**

Somogyi Gabriella
V. évf. kertészmérnök
BCE KTK Növénytani Tanszék, Genetika és Kertészeti Növénynevelés Tanszék
témavezető: Dr. Joachim W. Kadereit

A *Salsola kali* subsp. *kali* L. (homoki ballagófű, fam. *Chenopodiaceae*) egyéves halophyta faj, amely sós tengerparti homokdűnéken honos a földközi-tengeri, az atlanti és a balti partvidék mentén egészen Dél-Norvégiáig. A *Salsola kali* subsp. *ruthenica* Iljin alfaj kontinentális homoki és szikes élőhelyeken jelenik meg. Szélbeporzású növény. A tengerparti alfaj termései nagy valószínűséggel főként vízben terjednek, lehetséges azonban madarak általi terjesztés és anemochoria is. A kontinentális alfaj ördögsekérszerűen, leginkább szél által terjed.

A kutatást a mainzi Johannes Gutenberg Egyetem botanikai intézetében (Institut für spezielle Botanik und Botanischer Garten) végeztem a „Coastal project” keretében. A projektben eredetileg 7 különböző ökológiájú tengerparti élőhelyen honos faj (*Cakile maritima*, *Calystegia soldanella*, *Crithmum maritimum*, *Eryngium maritimum*, *Halimione portulacoides*, *Salsola kali*, *Suaeda maritima* és *Triglochin maritimum*) biogeográfiai vizsgálatát tűzték ki célul, Törökország partjaitól Dél-Svédorszáig.

A *S. kali*-nál összesen 59 élőhelyről származó 73 egyedet vizsgáltam AFLP módszerrel. Az eredmények Neighbor-Joining analízise 2 fő földrajzi csoport elkülönülését mutatta: egy Mediterráneumon belüli és egy Mediterráneumon kívüli (Atlanti partvidék, Északi tenger, Balti tenger) csoportot. A Mediterráneumon kívüli térségben két alcsoport fedezhető fel, melyek földrajzilag nem differenciáltak. A mediterrán csoporton belül viszont egyértelműen megfigyelhető egy kelet-mediterrán (Adria, Égei-tenger, Fekete-tenger) és egy nyugat-mediterrán cluster. A kontinentális területekről származó *S. kali* subsp. *ruthenica* alfajba sorolt növényanyag között a genetikai variabilitás jóval csekélyebb mértékű. Ezek a minták egységesen egy clustert képeztek a kelet-mediterrán csoporton belül.

A „Coastal project” eredményei révén a különböző tengerparti fajok jégkorszakbeli feltételezett földrajzi eloszlását próbáljuk megfejteni.

TAX-EVOL-11

A genetikai variabilitás szerkezete a nagypettyes hangyaboglárka (*Maculinea arion* [Linnaeus 1758]) Kárpát-medencei populációiban

Tóth Andrea

IV.évf.biológus

DE TTK Evolúciós Állattani és Humánbiológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Pecsénye Katalin, Dr. Varga Zoltán

A boglárkalepkék családjában (*Lycaenidae*) gyakori jelenség a mirmekofília. A nagypettyes hangyaboglárkára ennek obligát formája jellemző: a fiatal hernyók tápnövény-specialisták, majd a *Myrmica* nemzetségbe tartozó hangyafajok bolyaiba bekerülve hangyalárvákkal táplálkoznak. Ez nem jelent említésre méltó veszélyt a hangyaboly számára, ráadásul a dolgozók édes váladékot kapnak „cserébe” a hernyóktól.

A nagypettyes hangyaboglárka taxonómiai helyzete tisztázatlan: számos alfaját különítik el, melyek közül kettő él a Kárpát-medencében (*Maculinea arion arion* és *Maculinea arion ligurica*). Közöttük külső morfológiailag, élőhely szerint, iniciais tápnövényüket és repülési periódusukat illetően vannak különbségek.

Vizsgálatom célja a genetikai variabilitás szerkezetének feltárása, illetve a feltételezett alfajok taxonómiai státusának tisztázása volt. Ehhez Magyarország és Erdély területéről 5 populációból vettünk mintát a 2002-es és 2003-as év folyamán. Poliakrilamid gélelektroforézis segítségével 13 enzimlokuszon analizáltam a genotípusok megoszlását.

A polimorfizmus mutatói alapján megállapítottam, hogy a vizsgált populációkban viszonylag alacsony a genetikai variabilitás szintje, bár a többi *Maculinea* faj átlagos polimorfizmusához képest mindkét alfaj polimorfizmusa jelentős mértékű.

A genetikai variabilitás szerkezetét F-statisztika alkalmazásával tanulmányoztuk, melyben a populációk teljes genetikai variációját (F_{IT}) osztottuk fel populáción belüli (F_{IS}) és populációk közötti (F_{ST}) komponensekre. Az eredmények azt mutatták, hogy a teljes genetikai variancia legnagyobb része a populációk közötti komponensre (F_{ST}) esett, jelezve azt, hogy a populációk nagy mértékben elkülönülnek egymástól.

A Nei-féle genetikai távolságokon alapuló dendrogram szintén a differenciálódás hiányát mutatta a két feltételezett alfaj között. Azon populációk esetében, amelyeknél két egymást követő évből történt mintavétel, nagy időbeli variabilitást tapasztaltunk.

A hierarchikus F-statisztika, az AMOVA és a főkomponens analízis megerősítették ezeket az eredményeket.

A *M. arion* genetikai variabilitásának szerkezetére vonatkozó eredményeimet összegezve megállapíthatom, hogy a vizsgálataim során alkalmazott módszerek segítségével a két feltételezett alfaj között nem tapasztaltam elkülönülést, ugyanakkor a populációk között magas szintű differenciálódást mutattam ki, ami a faj sajátos parazita életciklusában bekövetkező véletlenszerű eseményeknek a következménye. Azon populációk esetében, amelyekből két egymást követő évben is történt mintavétel, nagy időbeli különbségeket tapasztaltam. Ez a genetikai sodródás hatásával magyarázható.

TAX-EVOL-12

***Datura stramonium* és *Datura arborea* DNS- és tropanoid-mintázatának néhány jellemzője**

Tóvölgyi Zsuzsa

IV. évf. gyógyszerész

PTE TTK Növénytan Tanszék

témavezetők: Dr. Szabó László Gy., Stranczinger Szilvia

Az elmúlt években a hazai kábítószer fogyasztás növekedésével párhuzamosan, a klasszikus drogok használata mellett más anyagok kipróbálása is egyre elterjedtebbé vált. Ide sorolhatók a *Datura*-fajok, melyek alkaloid tartalmuk miatt hallucinogének.

A növény minden része, de főként a magjuk és a levelük tartalmazza a paraszimpatikus idegrendszert bénító alkaloidokat, melyek erősen mérgező hatásukat még a szárítás után is megtartják. A fő tropán-vázis alkaloid az atropin és a szkopolamin.

Korábbi vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálatokkal különböző virágszínű *D. arborea* egyedek alkaloid tartalmát mérték. Mind a tartalomban, mind a mennyiségben nagy a szórás, de mindenképpen potenciális veszélyt jelentenek toxikológiailag. A szórás oka lehet, például a növény fejlettségi stádiuma, az ökológiai adottság és a gyűjtés ideje. A saját vizsgálatok azt mutatták, hogy a *D. stramoniumban* többszörös az összalkaloid mennyiség a *D. arboreához* képest, és az alkaloidok aránya hasonló. A *D. arboreában* a szkopolamin a több, és jelentős a társ-alkaloidok jelenléte is, különösen a fiatal levélben.

A növény fogyasztása atropinmérgezést, így antikolinerg delíriumot is okozhat, melynek felismerése gyakran nehézséget jelent a mindennapi orvosi gyakorlatban, és a páciensek intoxikált állapota miatt pedig érdemi anamnézis a szerhasználatra vonatkozóan legtöbbször nem nyerhető. Kis mennyiségű minta – akár gyomortartalomról is – lehetővé teszi, hogy a *D. stramonium* vagy *D. arborea* által okozott mérgezéseket megállapítsuk, ill. megkülönböztessük. Az elkülönítéshez molekuláris módszereket használtunk, melynek első lépéseként DNS-t izoláltunk a mintákból, majd az ITS4-ITS5 régiót amplifikáltuk. A PCR eredménye minkét fajban egy kb.750 bp hosszúságú fragment. Ezt követően először a szekvenciák összeillesztésével szekvencia szintű különbségeket, majd ezekre a különbségekre enzimeket kerestünk. A Dral enzim megfelelőnek bizonyult, a *D. stramonium* fragmentjében kettő, míg a *D. arboreában* egyetlen hasítási helyet sem találtunk. A Dral enzimmel történő emésztéssel a várt eredményt kaptuk, a *D. stramonium* ITS4-5 fragmentjét kettő látható darabra (450 bp és 250 bp) hasította, míg a *D. arboreae* egészben maradt.

Vizsgálataink eredményeként sikerült a két fajt mind kromatográfiás, mind molekuláris módszerekkel elkülöníteni. A kapott eredmények további vizsgálatokhoz nyújtanak kiindulási alapot.

TERM-1

Nagyvadkizárás hatása endemikus dolomit tölgyes fitomassza produkciójára és fajainak reprodukív sikerére

Arany Ildikó

V. évf., biológus – ökológus
DE TTK Növénytan Tanszék
témavezető: Dr. Matus Gábor

A Délkeleti-Bükkben igen erős a nagyvad általi zavarás. A nagyvad hatásának hosszú távú vizsgálatára indult az ún. vadkár program (1991, Less Nándor és Vojtkó András kezdeményezésére). Ennek keretén belül, fajgazdag endemikus dolomit tölgyesben (*Cirsio pannonicum-Quercetum pubescenti-petraeae* Less) végzett nagyvadkizárásos vizsgálat eredményeit mutatom be ökológiai és természetvédelmi szempontból.

2004-ben, 20 × 20 m-es állandó kvadrátpárban (12 éve bekerített és a vad számára szabadon hozzáférhető) meghatároztuk a fajokat és a fajonkénti virágzó hajtásszámot, nagy egyedszámú fajok esetében mértük a virágzó hajtások magasságát. Kvadrátonként kijelölt 12 db 1 × 1 m-es kiskvadrátban felvettük a teljes fajlistát, és további 12 db 25 × 25 cm-es kiskvadrát teljes földfelszíni fitomasszáját gyűjtöttük, majd szárítás után holt, dudvanemű (Dicotyledonopsida, Orchidaceae és Liliaceae) és fűnemű (Poaceae és Cyperaceae) frakciókra bontottuk. Arra kerestük a választ, hogy miben különbözik a bekerített és a legelt kvadrát fajösszetétele, diverzitása, produktivitása és reprodukív sikere, illetve milyen következményekkel jár a legelés természetvédelmi szempontból.

A bekerített és a legelt terület diverzitása között nem találtunk lényeges különbséget. A bolygatott, másodlagos és mesterséges termőhelyek fajai (Borhidi 1993) nagyobb gyakorisággal voltak jelen a legelt kvadrátban. A bekerített kvadrátban jelentősen megnőtt a lágyszárú szint élő ($p=0,006$) és holt ($p=0,028$) fitomassza tömege, a legjelentősebb eltérést a dudvaneműek mutatták ($p=0,002$).

A fűnemű csoport reprodukív sikere a legelt kvadrátban bizonyult magasabbnak ($p=0,008$). A dudvanemű csoport jóval magasabb reprodukív sikert ért el a bekerített kvadrátban, mind virágzó hajtásaik számát ($p=0,001$), mind azok magasságát tekintve ($p<0,05$). A természetes termőhelyek fajainak reprodukív sikere a bekerített területen szignifikánsan magasabb volt, mint a legelt kvadrátban ($p=0,012$).

Mindezek azt a feltételezést igazolják, hogy a nagyvad túl erős zavarást jelent a társulás számára. Ez hosszabb távon a növényközösség eljellegtelenedéséhez vezethet. A megelőzés leghatékonyabb módja a túltartott nagyvadállomány csökkentése lehet.

TERM-2

A vegetáció változásának vizsgálata egy elárasztott területen, a dél-hansági élőhelyrekonstrukció

Bátori Zoltán

V. évf. környezettudományi
SZTE TTK Ökológiai Tanszék
témavezető: Dr. Margóczy Katalin

A folyószabályzások, lecsapolások, vízszennyezések számos ősi láp, mocsár és tó sorsát véglegesen megpecsételték. Magyarországon az egykori vizes élőhelyek 97%-a már megsemmisült. A megmaradt vizes élőhelyek megőrzése közös feladatunk. Ahol lehetséges, ott a rekonstrukcióra is törekedni kell. A 2001 és 2002 során elárasztott dél-hansági élőhelyrekonstrukció területén 21 db 100m-es hosszúságú transektet jelöltek ki olyan módon, hogy a lehető legjobban lefedjék az előforduló vegetációtípusokat, s áthaladjanak az átmeneti állományokon is. Minden egyes 5*5m nagyságú kvadrátra elvégeztük a vegetáció felvételezését minden egyes évben. A megállapított vegetációtípusok segítségével nyomonkövetjük a vegetáció változását a területen. A legsekélyebb vízmélységeken a magassásosok kiterjedése figyelhető meg, szintén jelentős ezen a területen a gyékényesek száma is, de ez a vegetációtípus a mélyebb régióban is terjed. A legmélyebb vízmélységeken már csak hínárvegetáció képes fennmaradni, leszámítva a harmatkásásokat, amelyeket 2004-re a hóolvadást követő magasabb vízállás kisodort a partra. Jelen pillanatban a vegetáció mozaikos szerkezetű, fajkészlete megfelelő. A domináns fajok vizsgálata után megállapíthatjuk, hogy a lehetséges tőzegképző növények közül a *Carex acutiformis*, *Carex riparia*, *Phragmites australis* fordul elő legnagyobb mennyiségben a vizsgálati területen, bár a magassásosok kiterjedése több helyen erőteljesen csökken. A két gyékényfaj 2004-re jelentős területeket foglalt el, a *Phalaris arundinacea* minden vízmélységből eltűnt. A *Glyceria maxima* a mély vizeket részesíti előnyben. A felvételezések során a kisebb borítással rendelkező fajok változását is nyomon tudjuk követni. Az *Utricularia vulgaris* mellett a *Riccia fluitans* borítása erőteljesen megnövekedett 2004-re. A referencia területek kijelölésekor az volt az elsődleges szempont, hogy egy korábban sérült, hasonló vízmélységekkel rendelkező, a spontán rekonstrukció következtében változatos struktúrát mutató vegetációval tudjuk összehasonlítani a mintaterületeinket. A referencia területeken számos értékes növényre bukkantunk a cönológiai felvételezés során. A *Urtica kioviensis* szép populációját egy korábban lebányászott tőzegkaszttában találtuk meg, de előkerült az igen ritka *Apium repens* is. A vegetáció változásának vizsgálatát a következő években is folytatni fogjuk, hiszen számos kérdésre csak hosszú évek kitartó munkája után tudjuk megadni a választ.

TERM-3

Ürgetelepítés sikerességét befolyásoló tényezők

Boros Tamás

2004. zoológus

SZIE ÁOTK Ökológia Tanszék

témavezetők: Dr. Altbäcker Vilmos, Dr. Kabai Péter

Az ürge (*Spermophilus citellus*) egyedszáma egész Európában csökken, Magyarországon is védett állat. A csökkenés egyik oka az állat élőhelye, a rövid fűvű sztyeppék és legelők eltűnése. Magyarországon gyakran ott találhatóak stabil állományok, ahol az ürgék jelenléte problémát jelenthet (repülőterek, lóversenypályák). Ezeken a helyeken időnként szükségessé válhat az állomány gyérítése az állatok eltávolításával. Az ilyenkor kitelepített egyedek felhasználhatóak új populációk létrehozására olyan területeken, ahonnan az ürgék a közelmúltban kipusztultak. Ennek gyakorlati végrehajtásáról azonban nagyon kevés információ állt rendelkezésre, ezért elkezdtük vizsgálni az ürgetelepítés kivitelezésének kritikus pontjait: a befogást, a kiengedést, az áttelepített állatok monitorozását annak érdekében, hogy az állomány megtelepedjen az új helyen.

A befogási módszerek hatékonyságát vizsgálva két módszert hasonlítottunk össze: a hurkozást és az öntést. A két módon befogott állatok száma alapján nem találtunk különbséget a módszerek között, egyéb szempontok alapján célszerű dönteni közöttük.

Három módszerrel próbáltuk nyomon követni a kiengedés után az állatok egyedszámának változásait. A vizuális módszer a felszínen tartózkodó ürgék összeszámolásán alapszik; egy másik módszernél azokat a lyukakat számoltuk össze, amelyek előtt földkupacot találtunk. A sáv transzekt módszer az összes lyuk összeszámolásán alapul öt 200 m hosszú és 2 m széles sávban. A vizuális és a sáv transzekt alapján végzett relatív becslés hasonló eredményt hozott, a kupacos lyukszám alapján végzett becslés eredménye viszont különbözött az előző kettőtől, valószínűleg a kupacok keletkezésének időjárásfüggése miatt.

A fenti módszerek segítségével azt eddigi két, mintegy 1200 állatot érintő áttelepítés során azt állapítottuk meg, hogy a kitelepítést követő első napokban az állatok szétterjednek, ezután azonban stabil állomány alakulhat ki. Az áttelepítés eredményességét a sikeres megtelepedés és áttelelést követően, az ürgék új helyen történő szaporodása után lehet lemérni, ehhez azonban megfelelő élőhely kezelés és további monitoring szükséges.

TERM-4

Hortobágyi gyepek és vizes élőhely-mozaikok szünbiológiai és térinformatikai vizsgálata

Déri Eszter

V. évf. zoológus

SZIE ÁOTK Ökológia Tanszék

témavezetők: Dr. Lengyel Szabolcs, Sólymos Péter

Napjaink egyik legfontosabb természetvédelmi problémája a biológiai sokféleség csökkenése, melynek oka leggyakrabban az élőhelyek degradálódása, fragmentálódása vagy teljes eltűnése. Emiatt a biodiverzitás megőrzésének egyik lehetséges megoldása az élőhelyek védelmében, kezelésében rejlik.

Hosszabb távra tervezett kutatásunk célja a Hortobágyra jellemző gyepek és vizes élőhelyek mozaikszerkezetének illetve a szerkezet változásainak felmérése, valamint az élőhely használat és a természetvédelmi kezelések hatásának vizsgálata.

Dolgozatomban e programnak az első fázisát mutatja be, melyben felmértük a mintaterület biológiai értékeit, illetve megvizsgáltuk azt, hogy az élőhely foltok területe és alakja hogyan befolyásolja a fajgazdagságot, illetve a diverzitást. Emellett vizsgáltuk a fajszám és a diverzitás változását az élőhely-típus/ területhasználat szerint.

Mintaterületünk a Hortobágyi Nemzeti Park Egyek-Pusztaköcsi mocsárrendszer egyik rehabilitált mocsarához kötődő élőhelyeket foglalja magában. Ezen a viszonylag kis területen szinte az összes, Hortobágyra jellemző élőhely megtalálható. A vizsgálat első évében (2002) történt a terület légi fotózása, az élőhelyek körülhatárolása, digitalizálása és Á-NÉR szerinti terepi azonosítása. Ennek eredményeként 280 élőhely folt került lehatárolásra, melyek területe 0,003 ha-tól 214,3 ha-ig terjed.

2003-ban előzetes állapotfelmérésre került sor, melynek során 28 foltban a vegetáció és a fontosabb ízeltlábú csoportok (kabócák, poloskák, egyenesszárnyúak és pókok), míg 53 foltban a madarak kvantitatív viszonyait mértük fel (három alkalommal az év során). Összesen 281 fajt találtunk, ebből a legnagyobb számban a növények képviseltették magukat, 179 fajjal. Ízeltlábúakból 55 (kabócák: 5 faj, poloskák: 11 faj, egyenesszárnyúak: 22 faj, pókok: 17 faj), madarakból 47 fajt találtunk.

Az adatok elemzése során pozitív összefüggést találtunk a fajszám és az élőhely folt mérete között: minél nagyobb volt ugyanis a terület, annál több fajt találtunk az adott foltban. Ezt a kapcsolatot nagymértékben meghatározták a növények, mivel a növényfajok nélkül az ízeltlábúak fajszáma nem mutatott kapcsolatot a foltmérettel. A foltalak három kis kiterjedésű és extrém tagolt foltot leszámítva negatívan korrelált a fajszámmal, azaz minél jobban eltért az adott folt alakja a körtől, annál kevesebb fajnak adott otthont. Ezek az eredmények arra mutatnak, hogy a foltok alakja és mérete alapvetően befolyásolja a bennük lévő biológiai sokféleséget. 2004-ben többször (összesen 6 alkalom), több foltban (összesen 60 folt) vettünk mintát; és talajcsapdás mintavételezést is végeztünk 25 foltban a sokféleség pontosabb mérése érdekében, illetve a területhasználat, a fajgazdagság és a diverzitás kapcsolatának vizsgálatára.

TERM-5

Mozaikos tóparti élőhely kisemlős közössége: generalisták vs. indikátorok

Dremmel László, Vágai Virág

IV. évf. biológus

PTE TTK Zootaxonomiai és Szünzoológiai Tanszék

témavezető: Dr. Horváth Győző

A Mattyi-tó menti mozaikos élőhelyen 1997 óta folynak kisemlős csapdázások felmérések. Ezek a területen fajgazdag kisemlős közösséget mutattak ki, annak ellenére, hogy az eredeti tóparti füzes növénytakaró helyett degradált gyomvegetáció található. Az élőhely szempontjából generalista fajok mellett indikátor értékű kisemlősök is előkerültek, mint például a cickányfajok, amelyek meghatározó szerepet játszottak a kimutatott kisemlős közösség összetételében.

Jelen dolgozatban azt a kérdést vizsgáltuk, hogy a vegetációban degradált mozaikos táj mikro-élőhely foltjait tekintve indikálnak-e egyes kisemlősök jobb minőségű élőhely foltokat, illetve e mozaikos területen egy adott mikro-élőhelyre, vagy mikro-élőhely csoportra nézve az egyes fajok jellemezhető-e szignifikáns indikátor értékkel.

Az indikátor fajok jelenlétét a Mattyi-tó menti mozaikos területen végzett csapdázások 2002-2003-as fogási adatai (júliustól októberig) alapján vizsgáltuk, ami 14520 csapdaéjszakának felel meg. A protokoll szerint 5 éjszakai periódusokkal, fogás-jelölés-visszafogás módszerrel csapdázunk júliustól októberig. Három, domborzatilag különböző felszínű, markánsan elkülönülő vegetáció struktúrájú területen jelöltük ki az egyenként 50x50 m-es csapdahálónkat, melyek mindegyikén 121 db dobozcsapdát működtettünk. A kvadrátokon (A, B, C) belüli mikrohabitatok elkülönítésére a terepen elkészített vegetáció térkép szolgált, melynél a két fő szempont a vegetáció magassága és a foltok térszintjének különbsége, azaz a csapdapontok talajvíztől való távolsága volt. Az indikátor értékek meghatározásához az IndVal-módszert alkalmaztuk.

2002-ben a Galium-borítású foltok szignifikáns indikátora a földi pocok (*Microtus subterraneus*) populáció volt, amely karakter faja volt a terület kisemlős közösségének. A 2003-as eredmények alapján a vizsgálatunk alá vont területen indikátor fajnak számítottak: közönséges vízicickány (*Neomys fodiens*), földi pocok, a sárganyakú erdei egér (*Apodemus flavicollis*) és a pirók erdei egér (*Apodemus agrarius*), amely utóbbi fajnál kapott eredmény természetvédelmi értékelésben történő alkalmazhatóságát megkérdőjeleztük. A faj ugyanis az itt élő kisemlős közösség leggyakoribb faja volt, és mint köztudott generalista tulajdonságai, valamint a populáció jellegzetes, kitérés csúcsokat mutató sűrűség ingadozásának megfelelően minden mikro-élőhely foltot képes volt elfoglalni.

TERM-6

Bálványfirtás hatásának vizsgálata a Szársomlyón

Erdős László

V. évf. biológus

SZTE Ökológiai Tanszék

témavezetők: Márkus András, Dr. Körmöczy László

A Szársomlyó országos jelentőségű természetvédelmi terület. Igen értékes növénytársulásai számos ritka, védett faj élőhelyét jelentik, melyek közül néhány hazánkban csak itt található meg. Déli oldalán és a hegygerincen erőteljes terjedésben van Magyarország egyik legveszélyesebb inváziós faja, az *Ailanthus altissima*. Allelopátiás hatásával és árnyékolásával veszélyezteti a megtámadott közösségek eredeti növényvilágát.

A Szársomlyó társulásai közül a dalmát csenkeszes sziklagyepen (*Sedo sopianae-Festucetum dalmaticae*) és a pusztafüves lejtősztyeppreton (*Cleistogeni-Festucetum rupicolae*) végeztünk irtási kísérleteket a hegy délnyugati, Nagyarsány településhez közeli részein. Összesen 21 kvadráttal dolgoztunk, melyből 15-ben a vegyszeres kezelés hatásait kísértük figyelemmel, 2-ben metszőollóval vágtuk le a bálványfákat, 4 kvadrát pedig kontrollként szolgált. Kétféle vegyszer hatását vizsgáltuk (Banvel és Garlon), melyeket különböző oldószerekben is kipróbáltunk. Arra voltunk kíváncsiak, hogy (1) milyen eredményességgel irtható a bálványfa, és hogy (2) a kezelésnek milyen a hatása az eredeti vegetációra. Először 2003. május végén felvételeztünk. A permetezésre 2003. júliusban került sor. 2004-ben háromszor végeztünk felvételezést: tavasszal, nyáron és ősszel. Az adatok értékelését SYN-TAX segítségével végeztük.

A bálványfák levelei a permetezést követően rövid időn belül elszáradtak. A következő évben azonban a kvadrátok jelentős részében sok bálványfa kisarjadt, sőt néhány helyen az eredeti borítást is megközelítették. A gyepon jól látható volt a vegyszer hatása. Az összborítás általában lecsökkent, és megváltozott a gyepon fizionómiája is.

A Szársomlyón végzett kezelés eredményei is jól mutatják, hogy a bálványfa irtása rendkívül nehéz, és nagy körültekintést igényel. Még a legóvatosabb vegyszeres kezelési eljárással sem kerülhető ki a gyepon sérülése.

TE

Ürc

Bor
200.
SZIT
téma:A
Magy
sztye
állom
lóvers
gyérit
új po
kípusz
rendel
pontja
érdeké
A b
a hurk
különb
közöttü
Hár
egyeds
összes
össze,
összes
transzek
lyukszán
valószínű
A fer
áttelepíté
állatok s
eredmén
történe
további m

TERM-7

A legelés intenzitásának hatása a földön fészkelő madarak költési sikeréreErdős Sarolta
V., évf. biológus
ELTE TTK Állatrendszertani és Ökológiai Tanszék
témavezető: Dr. Báldi András

Az elsődleges célom a legelési intenzitás, valamint a fragmentáció következtében létrejövő szegélyhatás madarak fészkeljélésére gyakorolt hatásának a vizsgálata. Kutatásaimat két részletben végeztem, először 2003 tavaszán műfészkekkel, majd 2004 tavaszán a mezei pacsirta (*Alauda arvensis*) fészkeivel. Elsősorban a műfészkek (N=112) és valódi fészkek (N=34) lokális környezetében található növényzet magasságának illetve borításának a hatását elemeztem a fészkek túlélésére.

A műfészkes vizsgálatokat az ország három különböző régiójában (kiskunsági szikesek, kiskunsági turján vidék valamint hevesi füves puszták) összesen 19 extenzíven illetve intenzíven legelt terület-páron végeztem. A gyepek legelésének intenzitását a területen található szarvasmarhák számával jellemeztem. A műfészkekkel vizsgálatok során a fragmentáció hatásának vizsgálatához mind a szegély, mind a belső élőhelyekbe műfészkeket (N=304) helyeztem el. A műfészkek talajra helyezték ún. nyitott fészkek voltak, melyek egy fűrtojást és egy gyurmából készült műtojást tartalmaztak. Ezek az eredmények azt mutatják, hogy a legelés intenzitása szignifikánsan befolyásolja a fészkeljélést; a kevésbé legelt területeken magasabb volt a fészkek túlélése. Szegélyhatást a predációra nézve azonban a területek nagy részénél nem tudtam kimutatni. A fészkek körüli vegetáció-szerkezet tanulmányozva azt kaptam, hogy nagyobb gyepek borítottság, valamint magasabb fű esetén nő a fészkek túlélési esélye.

A mezei pacsirta (*Alauda arvensis*) fészkeinek vizsgálatát az előző évben készített territóriumtérképezések adatai alapján kiválasztott Böszörménypusztán végeztem. A legelés intenzitását a műfészkekhez hasonlóan a szarvasmarhák számával jellemeztem. A fészkeket a felröppenő vagy táplálékot hordó szülők követésével találtam meg. A legelés hatásának elemzéséhez a fészkeket közvetlenül körülölelő vegetáció magasságát illetve borítását becsültem meg a fészektől vett eltérő távolságokban. Néhány költési paramétert - a tojások hosszát, szélességét, valamint a fiókák tarsushosszát - is megmértem. Eredményeim azt mutatják, hogy a legelés a növényzet magasságának változtatásával befolyásolhatja a mezei pacsirták költési sikerét. A fészket közvetlenül körülölelő fű magassága ugyanis szignifikáns összefüggést mutatott a fészkeljélpredáció mértékével, mely szerint magasabb fű esetén kisebb a predáció veszélye.

TERM-8

A juhlegeltetés hatásának vizsgálata hortobágyi száraz szikes gyepekbenHódör István
IV. évf. biológia
DE TTK Növénytan Tanszék
témavezető: Dr. Papp Mária

A Hortobágyi Nemzeti Parkban általánosan alkalmazott természetvédelmi kezelés a juhlegeltetés, mely befolyásolja a füves élőhelyek faji összetételét, szerkezetét. Ezért határoztuk el, hogy megvizsgáljuk a juhokkal történő legeltetés hortobágyi száraz szikes gyepekre gyakorolt hatását. A Hortobágy déli pusztáin, két eltérő módon hasznosított területen - Angyalháza és Pentezug-pusztán - négy jellemző növénytársulást jelöltünk ki: *Achilleo setaceae* - *Festucetum pseudovinae*, *Artemisio santonici* - *Festucetum pseudovinae*-, *Camphorosmetum annuae*, *Puccinellietum limosae*.

Hipotéziseink között szerepelt a legelés gyomosító és a társulásokat homogenizáló hatásának tanulmányozása. A tanulmányozott társulások a növényborítás szempontjából két típust képviseltek, a nyílt és a zárt gyeptípust. A vizsgálat három éve (2002-2004) alatt kapott adatainkat többváltozós statisztikai módszerek (cluster-és főkoordináta-analízis), valamint diverzitási rendezések segítségével értékeltük.

A zárt szikes gyepeknél az intenzív juhlegeltetés jelentős gyomosító hatásáról a vizsgált kvadrátokban nem beszélhetünk. A legeltetés hatására bizonyos zavarástűrő, társulásalkotó fajok, elsősorban a *Festuca pseudovina* dominanciája növekedett, míg a többi társulásalkotó, de legelésre érzékenyebb faj dominanciája csökkent. A ritka fajok esetében a legeltetés, míg a domináns fajok tekintetében a kontroll állományokban kaptunk nagyobb diverzitási értékeket. Terepi megfigyeléseink is alátámasztják eredményeinket, hogy az intenzív juhlegelésnek a vizsgált társulásban a gyepek mozaikosságát csökkentő, homogenizáló szerepe van.

A nyílt szikes gyepek kis fajszámú és borítású, kifejezetten halofita társulásaira a juhlegeltetésnek a fajdiverzitást növelő hatással van, mely nem csupán a ruderalis fajok számának növekedésében nyilvánul meg. Olyan közeli társulások fajai jelentek meg, melyek a padkaperemi ürmös szikespusztán honosak (*Festuca pseudovina*, *Scorzonera cana*). Ez az intenzív legeltetésnek a padkaperemi hátráló eróziót elősegítő hatását igazolja. A legeltetés a természetes állapotban fajszerkezet, gyakran monodomináns fajkompozíciót átalakítja, mely hatás különösen a jóságállások közelében ölt jelentős mértéket.

TERM-9

Módszertani jellegű faállományszerkezeti alap kutatások a Ropolyi Erdőrezervátum területén

Mányoki Gergely
2004. biológia
PTE TTK Növénytani Tanszék
témavezető: Dr. Borhidi Attila, Horváth Ferenc

Az erdő dinamikus változó faállományának, emberi beavatkozások által is meghatározott, egy adott időpontban kimerevített képe az ún. faállományszerkezet, melynek monitoringszerű horizontális- és vertikális leképezésével és elemzésével magára az erdődinamikai folyamatokra következtethetünk. A természetes erdődinamika megismerését célul kitűző, s a természetközeli „reform-erdőgazdálkodás” meghonosodása érdekében végzett, új irányvonalat képviselő faállományszerkezeti kutatások közül igen fontos szerepet töltenek be azok, amelyek védett és az erdőművelés alól felmentett területeken folynak. Magyarországon jelenleg 71 erdőrezervátum magterületén adottak e feltételek; ezek egyben legfontosabb hátterei is e kutatásoknak, amelyek eredményességének alapja, hogy azokat több évtizedre - évszázadra tervezzük meg, illetve folytathassuk. Feltételezhetően minél tovább biztosított a természetes dinamizmusok szabad folyása, a faállományszerkezet leképezett tulajdonságai is annál közelebb állnak majd a természetes, őserdei állapotokat jellemzőkhöz.

Jelen alap kutatás a Ropolyi ER magterületének egy 117 éves dél-dunántúli bükkös-állományában folyik. Célja az, hogy egy általános elemzéssel szolgáljon a mintaterület faállományáról, különösen annak különböző szinteken megjelenő szociális helyzeteire nézve, illetve hogy tesztelje egy célorientált, hosszútávú vizsgálat sorozat egyed alapú és a mintaterület minden faegyedének felvételezésére kiterjedő, lehetséges módszertanát. A munka jelen fázisában elsősorban a bükk és az ezüsthárs kompetíciós dominanciaviszonyaival kapcsolatos kérdésekre kerestem a választ, a felvett, illetve a származtatott adatok korrelációs értékelésével, s ábraelemzések segítségével.

A Zselic bükköseire leírt kétszintes lombkorona nem a vártak megfelelően alakul; a felső lombkoronaszintben foglal helyet a bükk, az alsóban az ezüsthárs. Valószínűleg egy ilyen korú és természetességi fokú erdő ezen erdőfejlődési fázisában a leírtakkal szemben ez az állapot tekinthető normálisnak. A dinamika „igen stabil növénytársulás”-ként jellemzett (Borhidi, 1999) dél-dunántúli ezüsthársas bükkös jelen prezentációja belső dinamikáját illetően akkor mondható stabilnak, ha a dinamika stabilitását az erdőfejlődés egész ciklusának stabilitásaként értelmezzük, ennek azonban feltétele a dinamizmusok szabad érvényre jutása. A mintaterület faállománya szerkezeti tulajdonságai alapján egy előremutató tulajdonságokkal bíró, Czajlik (2002) szerinti optimális szakaszba sorolható.

VIROL-1

Deléciós mutáns bovid herpesvirus 1 törzs genetikai jellemzése

Benyeda Zsófia
V. évf. állatorvos
SZIE Állatorvos-tudományi Kar, Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék
témavezetők: Dr. Rusvai Miklós, Dr. Hornyák Ákos

A bovid herpesvirus 1 (BoHV-1) a szarvasmarha állományok egyik leggyakrabban előforduló, számos kórkép és jelentős gazdasági károk kialakításáért felelős kórokozója, amely világszerte előfordul. A vírus Magyarországon az 1970-es évektől kezdve terjedt el számottevően, és mára a fertőzöttség a nagygazdaságokban általánossá vált, és ez nagymértékben csökkenti a termelés hatékonyságát, illetve klinikai megbetegedés esetén jelentős gazdasági veszteséget okoz. A 2002. decemberében kiadott rendelet (19/2002. (III. 8.) FVM) megjelenése óta hazánkban az elsődleges cél az állományok fertőzéstől való mentesítése, eleget téve ezzel az Európai Unió importelvárásainak is.

A mentesítési lehetőségek közül a leggyakorlatiasabb és leggyakorlatiasabb módszer a vakcinázás árnyékában végzett szelekciós mentesítés. Ilyen esetben a vadvírus terjedésének megakadályozását célzó vakcinázást marker vakcinával végezzük, mely lehetővé teszi azt, hogy a későbbiekben a vadvírus és a vakcinavírus okozta szeropozitivitást diszkriminatív ELISA segítségével elkülönítsük.

A dolgozatban egy olyan BoHV-1 törzset jellemeztünk, melyben a gE fehérjét kódoló génszakasz nem működött. A vírust másodlagos borjúhere sejtenyészetben szaporítottuk, és a nukleinsav tisztítása után a génszakasz elé és mögé 3-3 primert tervezünk, majd ezekkel elvégeztük a polimeráz láncreakción (PCR) alapuló nukleinsav amplifikálást. A kapott termékeket agaróz gélben megfutattuk, majd megtisztítottuk és szekvenáltattuk.

Az 1. primer párral végzett PCR eredménye negatív lett, mivel a primer kapcsolódási pontja a deletálódott régióba esett. A 2. primer párral kapott 776 bázispárnai termék a hiányzó szakasz mögött, egy rövid egységet fedett le, ebből arra következtettünk, hogy a kiütött rész hátsó határa ezen rész elé esik. A harmadik PCR-el kapott termék adta meg a választ kérdéseinkre. Az eredeti genomban lévő gE₁ gén kb. 3000 bázispárnai szakasznak felel meg, a PCR-el pedig egy megközelítően 5200 bázispárnai terméket kaptunk. Az eredmény magyarázata az, hogy a törzs nem egy deléció, hanem egy inzerció esett át, vagyis a génszerkezeti eljárás során a használt klónozó vektor beépült a deletálódott gE gén helyére.

Eredményeink alapján tehát elmondható, hogy a vizsgált BHV-1 törzs gE génjének nagyobbik része a gl gén egy részével együtt hiányzik és helyére egy LacZ génnel jelölt klónozó vektor épült be. Az így kapott insertió rekombináns vírus a deléciós mutánsokhoz hasonlóan alkalmas lehet marker vakcinaként való felhasználásra és az általa előidézett szeropozitivitás blokkoló ELISA segítségével elkülöníthető a vadvírus törzsek okozta immunitástól.

VIROL-2

Humán papillomavírus és *Chlamydia trachomatis* genomok azonosítása hámsejtekben

Fehér Enikő
V. évf. biológus
DE TTK, DE OEC Orvosi Mikrobiológiai Intézet
témavezető: Dr. Kónya József

A nemű szervekben előforduló humán papillomavírusokat (HPV) alacsony, illetve magas onkogén kockázatú típusokba soroljuk. A magas kockázatú típusokat a méhnyak rák megelőző elváltozásaiból és méhnyakrákból izolálták. Populációs megfigyelések alapján az onkogén HPV fertőzés egyik feltétele a méhnyaki hámelváltozások kialakulásának. Az onkogén HPV típusok az onkogén progresszió alatt végig kimutathatók a transzformált laphámsejtekben.

A *Chlamydia trachomatis* fertőzés egyik vezető oka a szexuális úton terjedő betegségeknek. A hosszan tartó vagy ismétlődő fertőzés következményeként szisztémás antitest válasz alakul ki, ami a perifériás vérből könnyen detektálható. A szérumban antitestek segítségével kimutatható korábbi *C. trachomatis* fertőzés kofaktora a HPV közvetítette méhnyaki karcinogenezisnek. A baktérium valószínűleg fogékonyabbá teszi a hámsejteket a HPV fertőzésre.

Tanulmányunkban méhnyakról származó hámsejtekben vizsgáltuk az egyidejű HPV és *C. trachomatis* fertőzések előfordulási gyakoriságát annak megállapítására, hogy a *C. trachomatis* részt vesz-e a HPV közvetítette neoplasiás folyamatok progressziójában. Célunk volt a HPV-k és a *C. trachomatis* hatékony kimutatására alkalmas módszerek kidolgozása, valamint a *C. trachomatis* (CT) PCR optimalizálása.

Munkánk során 707, a DE OEC Női Klinikájáról származó, atípiás citológiájú beteg mintáját használtuk fel, melyekből β -globin PCR alapján 697 volt vizsgálatra alkalmas. A HPV PCR-hez konszenzus és alacsony kockázatú HPV-re specifikus primereket használtunk. Néhány minta esetén RFLP-t végeztünk. A CT PCR optimalizálás során vizsgáltuk a Ctp1-Ctp2 és PL6.1-PL6.2 primerek érzékenységét és az optimális primerbekötődési hőmérsékletet.

A vizsgált minták közül 411-ben nem volt kimutatható HPV fertőzés, 278 minta magas kockázatú HPV-vel, 8 alacsony kockázatúval volt fertőzött. RFLP-t 4 mintán végeztünk, ezek alacsony kockázatú HPV-vel voltak fertőzöttek. *C. trachomatis* 6 mintából volt kimutatható, magas kockázatú HPV-vel ezek közül 1 volt fertőzött.

A HPV-k kimutatására és tipizálására sikerült tehát kidolgoznunk egy hatékony protokollt, valamint elvégeztük a CT PCR optimalizálását. Mivel az onkogén HPV típussal rendelkező atípiás citológiájú minták elenyésző százalékában volt kimutatható *C. trachomatis* fertőzés, arra következtettünk, hogy ez a fertőzés nem vesz részt a méhnyaki hámsejtek neoplasiás folyamatainak progressziójában.

VIROL-3

A humán herpeszvírus 6 (HHV-6) és a humán immundeficiencia vírus (HIV) kölcsönhatásának vizsgálata macrophagokban

Gáll Tamás
IV. évf. biológus
DE TTK, DE OEC Orvosi Mikrobiológiai Intézet
témavezető: Csoma Eszter

A humán herpeszvírusok és humán immundeficiencia vírus (HIV) közötti kölcsönhatásnak fontos szerepe van a HIV-fertőzéshez társuló opportunisták patogenezisében és az alapbetegség lefolyásában. A humán herpeszvírus 6 (HHV-6) szeropozitivitás a populációban meghaladja a 90 %-ot. A vírusnak A és B variánsa van. A B variáns (HHV-6B) az exanthema subitum előidézéséért felelős. Ezzel szemben a HHV-6A ritkán mutatható ki immunológiailag intakt személyekben, és főleg immunosuppresszált betegekből izolálható.

A két vírus kölcsönhatását *in vitro* már számos sejtben vizsgálták. Bizonyos tanulmányok szerint a HHV-6 a fő célsejtjeinek tartott CD4+ T-lymphocytákban képes fokozni a HIV szaporodását, míg mások szerint éppen ellenkezőleg, szuppresszív hatással bírnak. Dendritikus sejteken és tonsillából származó lymphoid szöveteken végzett koinfekciós kísérletekben a HHV-6 jelentősen szuppresszáta az R5 HIV variánsok szaporodását, ugyanakkor az X4 variánsokét nem. Ugyanezekben a kísérletekben a HIV nem befolyásolta a HHV-6 replikációját.

Munkánk során az eddig alig tanulmányozott, a HHV-6 látencia fő célsejtjeinek tartott macrophagokban vizsgáltuk a két vírus kölcsönhatását. Ennek során perifériás vérből szeparált, monocyta eredetű macrophagokat, a HHV-6A GS törzsével, illetve a HIV-1 Ada-M törzsével fertőztük külön-külön, illetve a két vírussal együttesen. A kettős fertőzés vagy szimultán történt, vagy az egyik vírussal történő fertőzést a másik 3 nap múlva követte.

Vizsgálataink során kimutattuk, hogy a HHV-6 jelentősen szuppresszája a HIV-1 replikációját. A HIV-1 ellenben csak akkor befolyásolta, a HHV-6 szaporodását, ha a kettős fertőzés szimultán történt. Ekkor gátolta a HHV-6 replikációját. Munkánk során azt is kimutattuk, hogy a HHV-6 szignifikáns mennyiségű interleukin-8 (IL-8) ürítését indukálta addig, míg a HIV szaporodásának gátlását tapasztaltuk. A HHV-6 és a HIV fertőzés hatására a fertőzetlen kultúrákhoz képest szignifikáns mennyiségű IL-10-et mértünk, melynek szerepe lehet a vírusok replikációt gátló hatásában.

Eddigi eredményeink alapján feltételezzük, hogy a HHV-6 HIV replikációt gátló hatásában az IL-8-nak és az IL-10-nek valószínűleg szerepe van. Jelenleg is folyó és jövőbeli kísérleteinkben ezek szerepét és hatásmechanizmusát kívánjuk tisztázni.

VIROL-4

Epstein-Barr vírus infekció hazai Hodgkin-kóros betegeknél

Gregus Andrea, Buzder Tímea
V. évf. biológus
DE TTK, DE OEC Gyermekklinika
témavezető: Dr. Oláh Éva

A Hodgkin-kór (HK) egy malignus lymphoproliferatív betegség. Jellemző sejtípusai a rosszindulatú Reed-Sternberg-óriássejtek és Hodgkin-sejtek (HRS-sejtek). A tumorok osztályozásának alapja a HRS-sejtek aránya a normál B-sejtekhez képest. Ennek megfelelően a betegség két csoportra osztható: nodularis lymphocytopraedominans és klasszikus Hodgkin-lymphoma. A klasszikus Hodgkin-lymphomának négy altípusa ismert: nodular sclerosis, kevert sejtes, lymphocytaszegény és lymphocyta-túlsúlyos. A Hodgkin-kór oka még nem teljesen tisztázott. Aetiológiáját környezeti és genetikai tényezők egyaránt meghatározzák. Kialakulásában többek között fertőző ágensek is szerepet játszanak. Számos kutatócsoport igazolta az Epstein-Barr vírus (EBV) jelenlétét HK-os betegek tumorszövetében.

A Föld lakosságának mintegy 90 %-a átesik ezen az infekción, ám a legtöbb esetben nem okoz semmilyen panaszt a vírus hordozó számára. Bizonyos esetekben azonban a B-lymphocyták immortalizálódhatnak, és kialakulhat a lymphoblastoid sejtvonal. Ekkor a vírus látens állapotban található, miközben különböző ún. EBV látencia gének expresszálódnak.

Az EBV-nek szerepe van a Burkitt-lymphoma, nasopharyngealis carcinoma, Hodgkin-kór és még számos betegség aetiológiájában.

Az EBV-Hodgkin-lymphoma asszociációt befolyásolja a földrajzi elhelyezkedés, az egyedek életkora, neme, etnikuma, a szövettani altípus. Az EBV jelenléte elsősorban a kevert sejtes szövettani altípusra jellemző, gyakoribb férfiaknál, valamint idősebb betegeknél és gyerekeknél.

Munkánk során az EBV pathogenetikai szerepét vizsgáltuk magyarországi Hodgkin-kórban szenvedő betegeknél. Tanulmányoztuk, hogy milyen arányban igazolható az EBV jelenléte a betegek paraffinba ágyazott szöveti mintáiban, és hogy az EBV-HK asszociáció hogyan függ össze az életkorral, a nemmel és a szövettani altípussal. Vizsgálatainkhoz polimeráz láncreakciót alkalmaztunk.

Az egyes korcsoportokat és a nemek fertőzöttségét tekintve szignifikáns eltérést nem tapasztaltunk. A szövettani altípust tekintve a kevert sejtes altípus volt a leggyakoribb.

Összegzésképpen elmondható, hogy az EBV infekció a magyarországi HK-s esetek kialakulásában is jelentős szerepet játszhat, s így az EBV infekcióval kapcsolatos immunterápia kialakítása esetleg tovább javíthatja a jövőben a betegek kezelési eredményeit.

A közeljövőben vizsgálni kívánjuk a vírusfehérjék, illetve RNS-ek jelenlétét immunhisztokémiai és in situ hibridizációs módszerekkel a látenciatípus meghatározása érdekében.

VIROL-5

Közép-európai fekete anyabölcső vírustörzsek filogenetikai összehasonlító vizsgálata

Doron Harel
V. évf. állatorvos
SZIE, Állatorvos-tudományi Kar. Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék
témavezető: Dr. Rusvai Miklós

A fekete anyabölcső vírus (Black Queen Cell Virus, BQCV), a mézelő méhből (*Apis mellifera L.*)-eddig izolált 18 vírus egyike, az újonnan kialakított *Dicistroviridae* család *Cripavirus* nemzetségébe tartozik. Jelenlétét Európa több országában is kimutatták, különösen olyan méhészetekben, ahol a családok egyidejűleg fertőzöttek voltak a *Nosema apis* egysejtű parazitával is. A kórokozó az anyalárva fejlődési rendellenességét és elhalását okozza, de tünetmentesen fertőzi a dolgozókat is.

A vírus ikozahedrális szimmetriájú, kb. 30 nm átmérőjű, 8550 nukleotid (nt) hosszú pozitív irányítottágú egyszálú RNS-t tartalmaz, melyen két nyitott leolvasási keretet (open reading frame, ORF) találunk. Az ORF1 a nem strukturális proteineket, míg az ORF2 a strukturális proteineket kódolja.

A jelen kutatás során magyarországi, illetve Ausztriából és Lengyelországból származó BQCV izolátumokat vizsgáltunk. A referencia szekvencia alapján tervezett specifikus primerpárok segítségével a genom két szakasz nukleotid-sorrendjét határoztuk meg. A megfelelő RNS-szakaszok egymáshoz illesztése, és az így kapott hasonlósági adatok alapján az egyes közép-európai izolátumok, illetve a közép-európai törzsek és a dél-afrikai referencia törzs rokonsági fokára következtettünk.

A nukleotid sorrendek meghatározása céljából reverz transzkripciót követő polimeráz láncreakciót alkalmaztunk. Az oligonukleotid primer párok segítségével nyert amplikonokat (583nt és 513 nt hosszú) agarózgél elektroforézissel elkülönítettük, tisztítottuk, szekvenáltattuk, és összehasonlítottuk a génbankban található dél-afrikai BQCV vírus genom szekvenciával.

A teljes analízált szekvencia 1097 nt hosszú (583 nt hosszú termék a helikázt kódoló szakasz, és 513 nt hosszú termék a strukturális proteint kódoló szakasz esetében). A strukturális proteineket és a helikáz enzimet kódoló szakasz részleges szekvenciáit hasonlítottuk össze. Az izolátumok különböző földrajzi területekről származnak. A különbségek elsősorban pontmutációk voltak, inzerció és delécio nem figyelhető meg. Míg az európai izolátumok szekvenciái 83-99%-ban hasonlítanak egymásra, a dél-afrikai törzstől jobban elkülönülnek (82-93%). Az európai törzseknél két külön csoportot figyelhetünk meg. Az egyikbe a magyar és az osztrák törzsek, a másikba a lengyel törzsek tartoznak. Ennek magyarázata lehet, hogy Magyarország és Lengyelország között viszonylag nagyobb a távolság, illetve egy kifejezett földrajzi gát, a Kárpát-hegység jelenléte. Ugyanakkor a Magyarország és Ausztria közötti kisebb távolság és a markáns földrajzi gátak hiánya magyarázatul szolgálhat annak a jelenségnek, hogy a magyar és az osztrák izolátumok nem alkotnak külön csoportot.

VIROL-6

Humán calicivírusok kimutatása molekuláris genetikai módszerekkel

Kele Beatrix

V. évf. biológus

SZTE TTK Mikrobiológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Deák Judit, Dr. Vágvölgyi Csaba

A *Caliciviridae* családba tartozó humán calicivírusok (HuCV) a rota-, adeno- és astrovírusok mellett az akut, nem bakteriális gastroenteritisek gyakori kórokozói világszerte. A fertőzés forrása elsősorban a széklettel kontaminált víz, élelmiszer és/vagy közvetlen kontaktus. Hagyományos vírustenyésztési módszerekkel nem tenyészthetőek, kimutatásuk polimeráz láncreakcióval történik. A virális RNS preparálása és a reverz transzkripció az RNS gyors degradációja miatt szigorú metodikai feltételek között kivitelezhető eljárás. Ennek ellenére a reverz transzkripció-polimeráz láncreakció (RT-PCR) jelenleg a legbiztonságosabb módszer a HuCV-k kimutatására.

A korábban Jiang által leírt (p289, p290A) primer párral (mely a vírus nukleinsavának konzervatív régióit (RNS-függő RNS-polimeráz -ORF1-) ismeri fel) történő PCR módszer mellett a real-time PCR módszer kifejlesztését tűztük ki célul. Egy matematikai algoritmust alkalmazva új primer párt terveztünk. Az real-time PCR során az amplifikáció a kapillárisokban történik, a ciklusok időtartama rövid. A nukleinsav detektálása SybrGreen festékkel történt. Ez a speciális festékanyag képes a DNS két szála közé ékelődni és a megváltozott fényelnyelési sajátságokat fotometriás úton méri a készülék. Az amplifikált HuCV nukleinsavát szekvenáltattuk, filogenetikai analízisét elvégeztük.

2003. január 1. és 2004. november 30. között 734 székletmintát vizsgáltunk meg. Rotavírust 53 (7,22%), adenovírust 30 (4,08%), astrovírust 16 (2,17%) esetben diagnosztizáltuk. A fennmaradó 596 mintából 62 esetben (10,40%) HuCV-t sikerült kimutatni, közöttük igen ritkán előforduló törzset is. Az újonnan tervezett primer párral 66 mintát vizsgáltunk meg, ezek közül 12 (18,1%), míg a Jiang által leírt primer párral 4 (6,06%) minta bizonyult HuCV szekvenciának.

Az általunk tervezett primer pár sokkal specifikusabb a Norwalk vírus szekvenciákra, mint a Jiang által tervezettek, ezáltal a humán calicivírus diagnosztika még szenzitívebbé és specifikusabbá válhat.

VIROL-7

MHC-kompatibilis, humán herpesvirus-6 specifikus antigén-prezentáló sejt vonal készítése

Kovács Katalin

V. évf. biológus

SZTE TTK Mikrobiológiai Tanszék

témavezető: Dr. Taródi Béla, Dr. Vágvölgyi Csaba

A humán herpesvirus-6-os típusa (HHV-6) nagy gyakorisággal fordul elő a populációban, a lakosság közel 90 %-a gyermekkorban átesik a fertőzésen. A primer fertőzést követően látencia alakul ki. A látens vírusfertőzés az élet során reaktiválódhat, főleg immunhiányos állapotban. A reaktiválódó vírusfertőzés kofaktorként, illetve oportunistá ágensként szerepelhet különböző betegségek kialakulásában (AIDS, *sclerosis multiplex*) illetve súlyos komplikációhoz vezethet terhesség során (magzati károsodás, spontán abortusz), és transzplantációt követően. Jelenleg nem áll rendelkezésre adat, hogy kialakul-e celluláris immunválasz, és a reaktiválódás során, valamint a társfertőzések kimenetelében milyen szerepet játszik ez a celluláris immunitás.

Jelenlegi vizsgálataink célja az immunogenitással rendelkező egyedi vírusantigének azonosítása, illetve a sejtek aktiválására alapozott in vitro módszer kidolgozása a vírusspecifikus CD8+ T-sejtek gyakoriságának meghatározására. A sejtek aktiválására egyedi struktúr-antigént (gB) és HLA-A*0201 gént kifejező "univerzális" antigén-prezentáló sejt vonalat készítettünk. A vírusantigént PCR klónozással expressziós vektorba építettük, amely a kérdéses vírusantigént az EGFP fluoreszkáló fehérjével képzett fúziós termék formájában fejezi ki. A rekombináns konstrukciókat HLA-A*0201 gént kifejező plazmidaal együtt MHC-t nem hordozó K562 humán eritro leukémia sejtekbe transzfektáltuk. Az így kialakított sejt vonal a HLA-A*0201 haplotípusú egyének specifikus CD8+ T-sejtjeit képesek aktiválni.

VIROL-8

A 2-es szerotípusú szarvasmarha adenovírus gazdafajváltását előidéző molekuláris változások vizsgálata az A- és B-szubtípusú prototípus törzsekben

Schamberger Anita

V.évf. biológus

ELTE TTK, Mikrobiológiai Tanszék

témavezető: Dr. Rusvai Miklós, Dr. Szendrői Andrea

A 2-es szerotípusú szarvasmarha adenovírus (BAdV2) tünetmentes fertőzést vagy pneumoenteritist okozhat szarvasmarhában illetve juhban. A szerotípuson belül az egyes törzsek genomszerkezetében, fajspecifitásban, hemagglutinációs spektrumában és kórokozó-képességében megfigyelt különbségek két szubtípus (A és B) kialakítását indokolták.

Az No.19 jelű (A-szubtípus) eredeti prototípus és az ORT/111 jelű (B-szubtípus) prototípus törzssel végzett DNS heteroduplex vizsgálatok a genomok 95%-os hasonlósága mellett két alacsony homológiát mutató DNS hurok (loop) jelenlétét mutatták ki.

Munkánk során különböző technikák segítségével (klónozás, szubklónozás, transzformálás, PCR stb.) meghatároztuk az ORT/111 genom nukleotid-sorrendjének egy részét (a teljes genom kb. 60%-át), mely tartalmazta az No.19 törzssel kis hasonlóságot mutató régiókat (E3 és fiber) is.

Az általunk vizsgált genomrész – a nemzetközi génbankban található más vírusok szekvenciával összehasonlítva a BAdV2A prototípus törzssel (No.19) mutatta a legnagyobb hasonlóságot - eddig azonosított génjei a következő fehérjéket kódolják: pentonbázis (IIIa, részleges), penton (III), major core protein precursor (pVII), minor core protein (V), mu core protein precursor (pX), hexonhoz kötött fehérje precursor (pVI), hexon (II), DNS-hez kötött fehérje (DBP), pVIII, 23 kDa, 100 kDa, 22kDa, 33 kDa és fiber fehérje.

Eredményeink alapján valószínűsíthető, hogy a BAdV2 megváltozott fajspecifitása mögött többek között a fiber fehérje gombjában (knob), illetve a hexon fehérjében bekövetkezett változás áll (94,2% illetve 83,0%-os aminosav identitás). A B-szubtípusba sorolható ugyanis az összes juhból izolált törzs, míg az A-szubtípusba az adenovírusokra általában jellemző szigorú fajspecifitásnak megfelelően csak szarvasmarhából izolált törzsek tartoznak. Az eltérő hemagglutinációs tulajdonságot – az A-szubtípusú törzsek a szarvasmarha, a B-szubtípusú törzsek a patkány vörösvérsejtjeit agglutinálják – valószínűleg szintén a fiber fehérje gombjának és szárának (shaft) változása okozza. Az aminosav identitás ezen a szakaszon 56,5%-os, amit deléciók (32 aminosav), inzerciók (19 aminosav) és aminosavcserék okoznak. Az E3 régióban bekövetkezett változásoknak (kb. 325 nukleotidnyi deléció, rövid inzerció, nukleotidcserék) a szervezet immunválaszának elkerülésében, illetve késleltetésében lehet szerepe. A patogenitásbeli változást többek között a hexon és a fiber fehérjét illetve az E3 régiót érintő változások indokolhatják.

VIROL-9

Nem csirkeeredetű avirulens baromfipestis vírus (NDV) törzsek genetikai vizsgálata

Somogyi Eszter

V. évf. biológus

ELTE TTK, MTA Állatorvos-tudományi Kutatóintézete, Molekuláris Virologia

Laboratórium

témavezető: Dr. Lomniczi Béla

A baromfipestis (*Newcastle-betegség*) a csirkék egyik legveszedelmesebb fertőző betegsége, és a fejlődő országokban mindenütt elterjedt. Időnként innen indulnak ki a távolabbi területek baromfiállományait is sújtó nagy járványok. Kórokozója az NDV (*Newcastle disease virus*), az avian paramyxovirushoz tartozó, RNS-tartalmú vírus. A csirkepatogenitás szempontjából az NDV törzsek két nagy csoportra oszthatók: léteznek csirkére ártalmatlan, avirulens és halálos fertőzést okozó, virulens törzsek. A csirkékben szinte kizárólag csak virulens törzseket találunk, amik idő- és térbeli jellegzetességeket mutató genotípusokba (II. – VIII.) sorolhatók. Az avirulens törzsek természetes élőhelyei viszont a vad vízimadarak: ezekben tünetmentes fertőzést tartanak fenn, aminek egyetlen következménye, hogy gazdáikban NDV specifikus ellenanyagok képződnek. Az ellenanyagok előfordulása miatt sokan még ma is úgy tartják, hogy a vad vízimadarak részt vesznek a baromfipestis terjesztésében. A kérdés nagy epidemiológiai jelentősége miatt genetikai vizsgálatoknak vetettük alá ezeket a világszerte megtalálható avirulens vírustörzseket, és az alábbi megállapításokat tettük. 1) A vírustörzsek két nagy csoportban található: zömük a csirkevírusokhoz viszonylag közelebb álló I. genotípusban, néhány vírustörzs azonban az ezektől igen jelentősen (kb. 50%-ra) eldivergált, H-jelű csoportban. 2) Az NDV törzsek genotipizálására eddig bevált részleges szekvencia-analízissel az utóbbit nem is lehetett besorolni, ezért egy ide tartozó törzs genomjának teljes nukleotid szekvenciáját meghatároztuk. 3) Különböző genotípusba tartozó NDV törzsek valamint egyéb madár és emlős paramyxovírusok génszekvenciájának filogenetikai analízisével megállapítottuk, hogy a H-csoport az NDV fa gyökérpozíciójában található, és a legrégebbi NDV csoportnak tekinthető. 4) Az NDV törzseknek két nagy, egymást át nem fedő rezervoárja létezik a természetben: az egyik a szabad vizeken élő vad vízimadarak, a másik az ember által tartott csirkék.

VIROL-10

Egy új hal-herpeszvírus izolátum részleges jellemzése

Somogyi Virág

V. évf. zoológus

SZIE ÁOTK, MTA Állatorvos-tudományi Kutatóintézet

témavezető: Dr. Benkő Mária

A herpeszvírusok által okozott fertőzések illetve betegségek szinte minden gerinces állatban, így a különféle halfajokban is régóta ismertek. Azonban máig is csupán egyetlen teljes genom szekvencia áll rendelkezésre hal-herpeszvírusból, nevezetesen a csatorna harcsa (*Ictalurus punctatus*) herpeszvírusából. Meglepő módon ez a vírus genetikailag egyáltalán nem hasonlítható a madarak és emlősök herpeszvírusaihoz, amelyekből pedig számos szekvencia ismert már, és ezek alapján besorolhatók a *Herpesviridae* család három alcsaládjába (*Alpha*-, *Beta*- és *Gammaherpesvirinae*). Néhány hüllőfajból nyert szekvencia a homológia alapján alfaherpeszvírusnak tűnik. Egy békából (*Rana pipiens*), és néhány további halfajból (angolna, pisztráng, lazac) meglévő rövid, részleges DNS szekvenciák viszont közeli rokonságot mutatnak a harcsa-herpeszvírussal. A kétélűek és halak herpeszvírusai önálló rendszertani csoportot képeznek, ami talán egy új víruscsalád is lehetne. Laboratóriumunkban az Egyesült Államok egyik jelentős halgazdaságából kapott, tokhalból (*Acipenser transmontanus*) származó vírusminták molekuláris genetikai vizsgálatát végzik. Munkám keretében egy klinikailag egészséges, felnőtt, vadon élő tokból izolált herpeszvírus részleges genetikai jellemzését kezdtem meg. A rendelkezésre álló vírus-DNS korlátozott mennyisége miatt véletlenszerű molekuláris klónozás és DNS szekvenálás módszerét választottuk. Az eddig megvizsgált három pozitív tok-herpeszvírus klón végeinek szekvenálásával kb. 3000 bázispárnyi (bp) DNS szekvenciát határoztunk meg. A *HindIII* enzimmel kapott klónokat a kódolt fehérjék homológia-vizsgálata alapján a harcsa-herpeszvírus genomterképén elhelyezve megállapítottuk, hogy e két vírus genomszerveződése nagyon hasonlít egymásra. Két klón a harcsa-herpeszvírus genom bal végéhez közelebb (25. és 32. térképegység között) helyezhető el, míg a harmadik klón a jobb vég felé (a 67. és 71. egység környékén) található gének homológjait tartalmazza. A baloldali két klónt számításaink szerint kb. 5000 bp választja el. Ennek a DNS szakasznak a felerősítéséhez PCR primereket terveztünk. A sikeres PCR, a PCR termék szekvenciája, valamint a klónok teljes szekvenciáinak meghatározása további bizonyítékokat szolgáltat a két vírus genomszerveződésének hasonlóságára, illetve esetleges eltérésére. Vizsgálataink gyakorlati jelentőségét abban látjuk, hogy ezek a világon az első tok-herpeszvírus DNS szekvencia adatok, amelyek alapján már diagnosztikai PCR módszer is kidolgozható. A gazdaállat ugyan hazánkban nem fordul elő, de ez az élőhelyén meglehetősen értékes és népszerű sporthal veszélyeztetett fajnak számít. Mesterséges szaporításával több észak-amerikai halgazdaságban kísérleteznek, és ezért a benne előforduló, akár ártalmatlan, akár kórokozó vírusok megismerése és kimutatása igen fontos lehet. Ugyanakkor más tokféléket hazánkban és a környező országokban is tenyésztnek, és ezekben a gazdaságokban időnként fel is lépnek ma még ismeretlen eredetű, jelentős vírusos elhullások. Elméleti szempontból eredményeink jelentősek lehetnek egy új herpeszvírus taxon kialakításának megalapozásához.