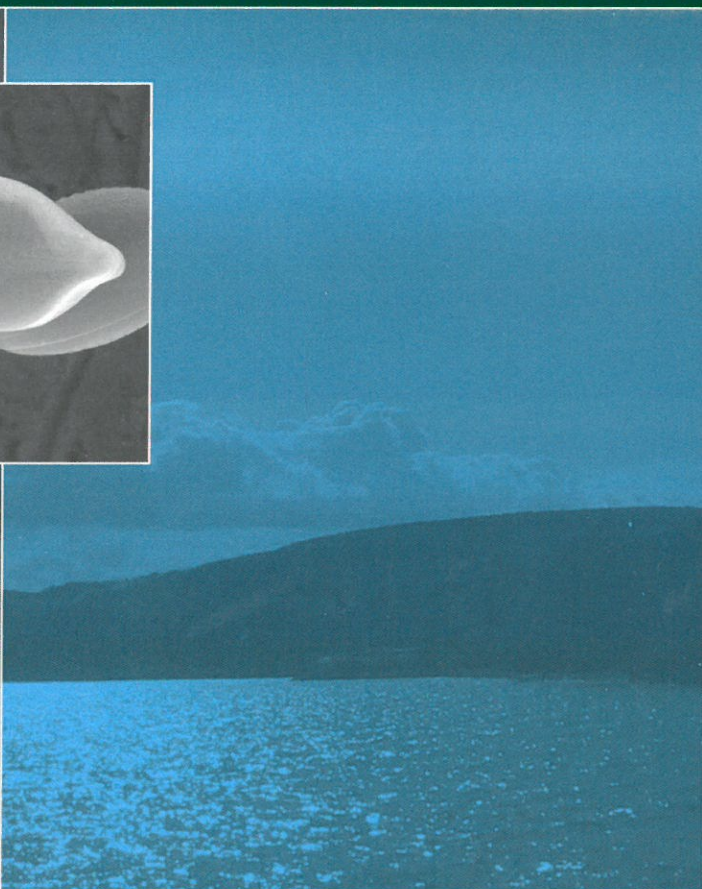
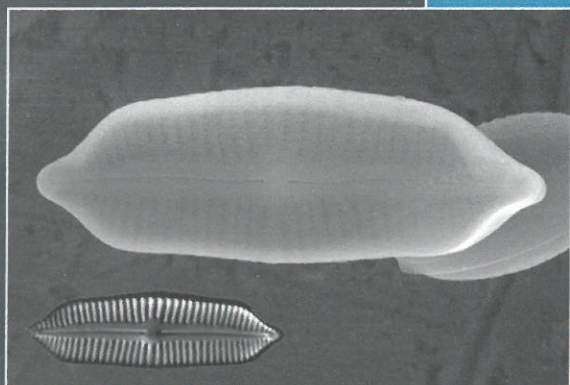


XXIX. Országos Tudományos Diákköri Konferencia
BIOLÓGIA SZEKCIÓ

PROGRAM ÉS ÖSSZEFOGLALÓK



Veszprém, 2009. április 8-10.

ÁllatÉt

A hialuronsav, mint mukoadhezív komponens, fokozza a molekulák agyba juttatását a nazális beviteli úton

Kis Lóránd
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Deli Mária, Dr. Varga Csaba

A vér-agy gát speciális, szabályozott környezetet teremt a központi idegrendszer számára. Az agyi endotélsejtek közötti zárókapcsolatok meggátolják a sejtek és molekulák szabad áramlását a vér és az agy között. Emellett speciális transzportrendszerei tápanyagokkal látják el az idegrendszer sejtjeit, és efflux pumpáival szabályozza a káros agyi metabolitok szintjét, illetve toxikus molekulák bejutását a vérből. Ugyanakkor, a vér-agy gát különleges tulajdonságai miatt a központi idegrendszerre kifejlesztett új terápiás molekulák mintegy 98%-a nem képes bejutni az agyszövetbe. Ez indokolja olyan új módszerek kifejlesztését, amelyek segítségével gyógyszerek hatékonyabban bejuttathatók az agyba.

Kísérleteinkben a vér-agy gátat megkerülő intranazális utat vizsgáltuk, amely lehetővé teszi a molekulák gyors bejutását a keringésbe, és kiküszöböli a máj és a gasztrointesztinális rendszer first-pass metabolizmusát is. A célunk az volt, hogy vizsgáljuk a peptid nagyságú tesztmolekula bejutását az orrból az agyszövetbe különböző vivőanyagok esetében. Az orrüreg mukociliáris clearance mechanizmusa miatt a mukoadhezív kötőszöveti molekulát, a hialuronsavat választottuk a vivőanyag egyik komponensének, amit egy nem ionos felületaktív anyaggal (Cremophor RH40) együtt alkalmaztunk. A 4 kDa molekulatömegű, hidrofil fluoreszcenizotiocianáttal jelölt dextránt (FD-4) (40 mikrogramm/dózis) 3 hónapos hím Wistar patkányok jobb orrüregébe juttattuk különböző összetételű hordozókban. Fluoreszcens spektrofotometriával vizsgáltuk a vérben, illetve a különböző agyrégiókba került tesztmolekula mennyiségét 30 perc, 1, 2, 4, és 8 óra múlva.

A hialuronsav megnövelte a vivőanyag viszkozitását, és lassította az FD-4 *in vitro* kioldódását. Emellett jelentősen megnövelte a tesztmolekula agyszövetbe jutását, szignifikánsan nagyobb FD-4 koncentráció volt mérhető a szaglógumóban, a homlok- és falilebény, a hippocampus, a kisagy, a középagy és a híd területén 4 órával a nazális beadás után. A százszoros dózisban (4 mg) vénásan beadott FD-4 bejutása kisebb volt az agyba a nazális beadáshoz hasonlítva. Morfológiai vizsgálatokkal igazoltuk, hogy a vivőanyagok nem toxikusak a szaglórendszer sejtjeire.

Összefoglalva, a hialuronsav, mint egy nem toxikus, természetes molekula, megnövelte a nagyméretű hidrofil tesztmolekula agyszövetbe kerülését a nazális úton.

ÁllatÉt

A $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ kicserélőt szelektíven gátló SEA0400 hatásának mértéke jelentősen függ az intracelluláris Ca^{2+} szinttől izolált kutya balkamrai szívizomsejtekben

Kormos Anita

Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Tóth András, Nagy Norbert

A $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ kicserélő (antiport, $3 \text{Na}^+ \leftrightarrow 1 \text{Ca}^{2+}$) kulcsszerepet játszik az akciós potenciál során beáramló Ca^{2+} eltávolításában, a szívizomsejtek Ca^{2+} homeosztázisának fenntartásában. Egyes szívbetegségek patomechanizmusának hátterében a kalcium homeosztázisának súlyos zavara áll, melynek egyik oka a plazmamembrán $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ kicserélőjének (NCX) kóros működése. Ezen szívbetegségekben az NCX farmakológiai modulálása ígéretes terápiás lehetőségeket hordoz. Jelenleg a leghatásosabb és legszelektívebb NCX gátló vegyület a SEA0400, amely patch clamp kísérleteinkben diasztolés (kb. 100 nM-os) $[\text{Ca}^{2+}]_i$ szint mellett 1 μM koncentrációban hatásosan blokkolta az „outward” (Ca^{2+} influx, Na^+ efflux) és kisebb mértékben az „inward” (Ca^{2+} efflux, Na^+ influx) NCX áramot (kb. 75%, illetve 55% gátlás). Ugyanakkor, a fiziológias körülményeket jobban megközelítő, izolált, intakt sejtekben a SEA0400 nem okozott számottevő változást az intracelluláris Ca^{2+} tranziensek nagyságában és kinetikai paramétereiben. Az ellentmondás egyik kézenfekvő magyarázata a gátlás mértékének $[\text{Ca}^{2+}]_i$ -függő változása lehet. Célkitűzésünk annak igazolása volt, hogy a szív ciklus során a SEA0400 pillanatnyi gátló hatása nagymértékben $[\text{Ca}^{2+}]_i$ -függő.

Izolált kutya szívizomsejteken, egyrészt NCX áramokat mértünk „whole cell” patch clamp technikával különböző intracelluláris Ca^{2+} szintek mellett, másrészt a koffein-indukált Ca^{2+} tranzienseket fluoreszcens optikai módszerrel határoztuk meg.

A SEA0400 gátló hatása az NCX áram mérésekben az $[\text{Ca}^{2+}]_i$ szint diasztolés értékről szisztolés értékre történő emelése esetén szignifikánsan, közel 50%-kal csökkent ($p < 0,05$; $n=16$). 1 μM SEA0400 hatására a koffein-indukált Ca^{2+} tranziens relaxációs időállandója ugyan szignifikánsan, kb. 30%-kal megnőtt ($1,03 \pm 0,05$ -ről $1,32 \pm 0,06$ -ra; $p < 0,05$; S.E.M.; $n=7$). Ez a változás még mindig csak töredéke a 10 mM NiCl_2 által létrehozott, közel 100%-os NCX gátlásra kapott fél relaxációs időnek (kontroll: $1,3 \pm 0,1$ s 10 mM NiCl_2 $10,1 \pm 1,3$ s; $p < 0,05$; S.E.M.; $n=5$).

Munkánk során hipotézisünk beigazolódt, mert a SEA0400 NCX áram gátló hatása jelentősen csökken, ha az intracelluláris Ca^{2+} szint a szisztolés (~ 1000 nM) értékhez közelít. Az eredmények alapján megállapítható, hogy a SEA0400 intracelluláris Ca^{2+} -függő NCX-gátló hatása befolyásolhatja jövőbeli terápiás alkalmazási lehetőségeit.

ÁllatÉrt

Antioxidáns rendszerek hatása indomethacin indukálta gyulladási folyamatokra

Kunstár Éva

Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Szalai Zita

Szegedi Tudományegyetem, Biológia tanár szak

Témavezető: Dr. Varga Csaba

A nem szteroid gyulladáscsökkentők egyik közismert mellékhatása, hogy a tápcsatorna bármely szakaszát képesek károsítani. Az általunk alkalmazott indomethacin főleg a vékonybélben okoz a Crohn-betegségekre jellemző tüneteket. Az általános gyulladási folyamatok során aktiválódó antioxidáns rendszerek közé tartozik a hem-oxigenáz enzimrendszer (HO), illetve a glutathion (GSH) is. A glikogén-szintáz-kináz-3 β (GSK-3 β) a NF- κ B transzkripció faktor aktiválásán keresztül vesz részt a gyulladás pathomechanizmusában, így ennek gátlása gyulladáscsökkentő hatással bírhat.

Tanulmányunkban a HO, a GSH és a GSK-3 β inhibitorok hatása közti összefüggéseket kívántuk tisztázni indomethacin indukálta patkány vékonybél-gyulladási modellben.

A bélgyulladást hím Wistar patkányokban indomethacinnal (10 mg kg⁻¹, s.c.) idéztük elő a 4 napos kísérlet második napján, továbbá az első 3 napon az állatokat a következő anyagokkal kezeltük: a HO-rendszert indukáló heminnel (30 μ M kg⁻¹, s.c.), vagy enzimaktivitást gátló ón-protoporfirinrel (SnPP; 30 μ M kg⁻¹, s.c.), vagy a GSH-szintet növelő N-acetil-ciszteinnel (NAC, 1 mM kg⁻¹, p.o.), vagy a GSK-3 β szintézist gátló DL-buthionin-(S,R) sulfoximinnel (BSO; 5 mM kg⁻¹, i.p.) és/vagy a GSK-3 β inhibitor SB415286-tal (0,33 mg kg⁻¹, s.c.).

Az indomethacin kezelés után 48 órával vizsgáltuk az általános gyulladási paramétereket, mértük a mieloperoxidáz (MPO) szintet, ami a neutrofil infiltráció mértékét adja meg. A HO enzim aktivitását a bilirubin termelés, még a GSH tartalmat 5-thio-2-nitro-benzoosav termelés spektrofotometriás mérésével határoztuk meg. Indomethacin-kezelés hatására jelentős gyulladás alakult ki a patkányok ileumában, melyet a HO aktivitás fokozása és a GSH-tartalom csökkenése jellemezett. Hemin kezelés hatására tovább fokozódott a HO-aktivitás, a GSH-tartalom megemelkedett, mely a léziók csökkenését eredményezte. A HO-rendszert gátló SnPP súlyosbította a gyulladási folyamatokat. A NAC kezelés csökkentette az indomethacin hatását, úgy hogy fokozta a GSH szintet és a HO aktivitást is. A GSK-3 β szintézisét gátló BSO hatására kismértékű gyulladáscsökkenést tapasztaltunk, melyet szintén a HO-aktivitás emelkedése jellemezett. A GSK-3 β inhibitor SB415286 várakozásunkkal ellentétben növelte a gyulladás mértékét, valamint a HO és GSH rendszerek kedvező hatását is felfüggesztette.

Eredményeink alapján az indomethacin indukálta gyulladások kivédésében a GSK-3 β és a HO rendszernek fontos szerepe lehet. Érdekes hogy, a GSK-3 β inhibitor nem várt módon kedvezőtlenül befolyásolta a gyulladási folyamatokat.

ÁllatÉrt

**Az epesavak dóziszfüggő módon befolyásolják a pancreas vezeték
sejtek HCO_3^- szekrécióját**

Nagy Lajos István
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Hegyi Péter, ifj. Dr. Rakonczay Zoltán

Az akut pancreatitis kialakulásában a leggyakoribb etiológiai tényező az epekövesség. A Vater papillába beékelődő epekő miatt regurgitáló epesavak mind az acinusokkal, mind a pancreas vezeték (ductus) epitél sejteivel érintkeznek. Az epesavaknak eddig főleg az acinus sejtekre kifejtett hatását vizsgálták, a HCO_3^- -ot szekretáló ductalis sejtekre nem.

Célunk volt megvizsgálni az epesavak hatását a pancreas ductusok HCO_3^- szekréciójára illetve, hogy ez milyen intracelluláris szignalizációs útvonalon keresztül valósul meg.

A tengerimalac pancreasból mikrodisszekcióval izolált intra/interlobuláris vezetékeket 0,1-1 mM glikokenodeoxikoláttal (GCDC) vagy kenodeoxikoláttal (CDC) perfundáltuk. Az intracelluláris Ca^{2+} koncentrációt ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) és pH-t (pHi) mikrofluorimetriás technikával vizsgáltuk.

Az CDC és GCDC dóziszfüggő, reverzibilis pHi eszkkenést és $[\text{Ca}^{2+}]_i$ emelkedést indukált a pancreas vezeték sejtekben. A lumenálisan adott 0,1 mM CDC stimulálta a HCO_3^- szekréciót, míg 1 mM CDC gátolta azt. A lumenbe adott anion transzporter blokkoló H_2DIDS kivédte a 0,1 mM CDC stimuláló hatását, mely a lumenális $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ cserélő érintettségére utal. A kis és nagy dózisu GCDC nem befolyásolta a lumenális anion cserélő aktivitását. A 0,1 mM CDC anioncserét aktiváló hatását kivédte a Ca^{2+} -kelátor BAPTA-AM előkezelés, az inozitol trifoszfát (IP_3) receptor gátló koffein és xestospongín C (50 μM) ill. a foszfolipáz C (PLC) gátló U73122 (10 μM). A Ca^{2+} -mentes oldatban adott 0,1 mM CDC nem befolyásolta a stimulált HCO_3^- szekréciót. A BAPTA-AM előkezelés nem befolyásolta a 1 mM CDC HCO_3^- szekréciót gátló hatását.

A lumenális oldal felől adott CDC kis dózisban stimulálja a vezeték sejtek HCO_3^- szekrécióját PLC és IP_3 mediálta Ca^{2+} szignálon keresztül. Ezzel szemben a nagy dózisu CDC mindkét oldalról gátolja a pancreas vezeték sejtek iontranszportereinek működését. A kis dózisu epesav által okozott szekréció-fokozódás megpróbálja kimosni a toxikus epesavakat a pancreas vezetékből. Amennyiben ez nem sikerül, akkor az epesavak nagy koncentrációban érik el pancreast, ami már toxikus a transzporterekre nézve.

ÁllatÉt

**Traumás stressz hosszú távú hatásainak vizsgálata és
farmakológiai kezelése**

Nagy Rita

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Haller József

A traumát elszenvedett emberek jelentős részét érintő betegség a poszt traumás stressz zavar (PTSD), melynek farmakológiai kezelése a mai napig sem tekinthető megoldottnak.

A dolgozatban bemutatott kísérletekben patkányokon vizsgáltuk az egyszeri elektromos sokk akut (1 nap alatt megjelenő), illetve krónikus (28 nap alatt megjelenő) hatásait két magatartási tesztben, ahol a kondicionált félelem teszt a traumára emlékeztető körülményekre adott erős félelmi reakciót, míg a szociális elkerülés teszt a PTSD-s betegek jellemző szociális szorongást modellezi. Eredményeink szerint az egyszeri trauma a humán PTSD tüneteire nagyban hasonlító, szignifikáns viselkedési változásokat idézett elő mind akutan, mind krónikusan az általunk alkalmazott mindkét tesztben.

A vizsgált farmakonok közül a Fluoxetin, mely a humán PTSD-ben is alkalmazott SSRI, tesztjeinkben is szignifikánsan csökkentette mind az akutan, mind a krónikusan megjelenő szorongásos tüneteket. A Klórdiazepoxid vizsgálatainkban csak az akut magatartási hatásokat csökkentette, krónikusan nem okozott jelentős változást, mely jól összecseng a klinikumban tapasztalt eredményekkel.

A PTSD kezelésében potenciónalisán új hatásmechanizmusú, NMDA receptort blokkoló MK-801 akutan mindkét tesztben szignifikánsan gátolta a szorongásos tüneteket, de krónikusan csak a kondicionált félelem tesztben hatott.

Ezen eredmények új hatásmechanizmusok megértésének segítségével új terápiák kialakulásához vezethetnek.

ÁllatÉt

A nitrogén-monoxid, a szuperoxid és a peroxinitrit szerepe a prekondicionálás és az exogén peroxinitrit antiarrhythmias hatásában altatott kutyamodellben

Szabó Edina

Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Végh Ágnes, Kiss Attila

Korábbi kísérleteink bizonyították, hogy altatott kutyában a peroxinitrit (PN) 100 nM-os intracoronáriás (i.e.) infúziója az ischaemiás prekondicionáláshoz (PC) hasonlóan csökkentette az ischaemia és reperfüzió során megjelenő kamrai arrhythmákat, valamint a nitrogén-monoxid (NO) és a szuperoxid (O_2^-) kapcsolódásából keletkező endogén PN mennyiségét.

Jelen munkánkban azt vizsgáltuk, hogy az endogén PN képződésének mérséklődése vajon az O_2^- vagy a NO csökkenésének az eredménye. Kísérleteinket kloralóz-uretán keverékével altatott, mellkasnyitott kutyák három csoportjában végeztük. A kontroll állatok (K, n=13) a bal koronária artéria elülső leszálló ágának (LAD) 25 perces lefogatását, majd az ezt követő hirtelen reperfüzióját megelőzően, 2x5 percen keresztül i.e. infúzióban sóoldatot (pH=8,4) kaptak. A prekondicionált csoportban (PC, n=9) 5 perccel a 25 perces teszt ischaemiát megelőzően a LAD-ot 2x5 percre lefogatuk, míg a PN-nel kezelt kutyáknak (PN, n=9) ugyanilyen időtartamig PN oldatot (100 nM) adtunk. Az okklúzió és a reperfüzió alatt a sinus coronariusból vett vérmintákból meghatároztuk a plazma nitrát/nitrit (NO_x , μM) szintjét Griess-reakcióval. A reperfüziót követően vett szívsvöveti mintákban mértük a szöveti NO_x -t és az O_2^- termelődést hisztokémiai módszerrel (konfokális mikroszkóp). A kontroll csoporthoz képest a PC és PN kezelés egyaránt jelentősen csökkentette az okklúzió során megjelenő kamrai extraszisztolék (240 ± 80 vs. 24 ± 9 ; 49 ± 18) és kamrai tachycardiás epizódok számát ($9,3 \pm 3,5$ vs. $0,6 \pm 0,3$; $0,4 \pm 0,3$), valamint a kamrafibrilláció gyakoriságát (46% vs. 0% és 11%). A kiindulási értékhez ($20,52 \pm 0,12$) képest, mind a PC okklúzió ($21,03 \pm 0,39$), mind a PN infúzió ($20,69 \pm 0,46$) emelte a plazma NO_x szintjét és ez közel azonos értéken maradt az okklúzió teljes időtartama alatt (PC: $21,17 \pm 0,36$; PN: $21,05 \pm 0,63$), szemben a kontroll állatokkal, amelyekben az okklúzió hatására csökkent a plazma NO_x szintje ($20,38 \pm 0,52$ alap vs. $19,51 \pm 0,4$). A reperfüzió kezdetén mért O_2^- termelődés a kontrollhoz képest ($37,1 \pm 0,9$) jelentősen mérséklődött a PN ($25,7 \pm 1,5$) és a PC ($21,1 \pm 2,1$) csoportokban.

Eredményeinkből arra következtetünk, hogy az exogén PN és a PC hatására bekövetkező csökkent endogén PN képződés elsődlegesen az O_2^- képződés mérséklődésének tulajdonítható. Ez a jelenség a NO szint emelkedésével együtt magyarázhatja az ischaemia/reperfüzió során tapasztalt antiarrhythmias hatást.

ÁllatÉt

Antioxidáns rendszerek kölcsönhatásának vizsgálata TNBS indukálta vastagbélgyulladásos modellben

Szabó Györgyi, Czeiner Ildikó
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Varga Csaba

A gyulladásoos bélbetegségek (IBD) kórfolyamata jelenleg a széleskörű kutatások ellenére sem teljesen ismert. Kimutatták, hogy a hemoxigenáz enzim (HO) és a glutathion (GSH) antioxidáns rendszer védő, míg a glikogén-szintáz-kináz-3 béta (GSK-3 béta) pedig patológiás szerepet tölt be az IBD lefolyásában. A GSK-3 béta inhibitorok csökkentik a gyulladási folyamatokat. Kísérleteink során célul tűztük ki a három rendszer interakciójának vizsgálatát kísérletes Crohn-betegség modellben.

A TNBS-modell jól reprodukálja a Crohn betegek jellemző makroszkópos, szöveti és immunológiai változásokat, így széleskörűen használt és elfogadott az IBD tanulmányozásában. Vastagbélgyulladást hím Wistar patkányokban 2,4,6-trinitrobenzén-szulfonsav (TNBS; 10 mg kg⁻¹, i.c.) adásával idéztük elő.

Kísérleti modellünkben a TNBS kezeléshez képest a -1, 0, 1-2. napon kezeltük az állatokat a következő anyagokkal: a HO enzimet indukáló sulfasalazinnal (SASP; 50 mg kg⁻¹nap⁻¹, p.o.), vagy heminnel (FePP; 30 µM kg⁻¹, s.c.), a HO enzimaktivitást gátló ón-protoporfirin (SnPP; 30 µM kg⁻¹, s.c.), a GSH szintézist gátló DL-butionin-[S,R] sulfoximinnel (BSO; 5 µM kg⁻¹, s.c.), vagy a GSH szintet növelő N-acetilciszteinnel (NAC; 1 mM kg⁻¹, p.o.), és/vagy a GSK-3béta szelektív inhibitor 4-benzyl-2-methyl-1,2,4 thiazolidine-3,5-dione-nal (TDZD-8; 1 mg kg⁻¹nap⁻¹; s.c.).

A TNBS kezelést követően mértük az általános gyulladási paramétereket (nyálkahártya léziók kiterjedését, a colon tömegének változásait, a myeloperoxidáz (MPO) enzim aktivitását, mely utóbbi a neutrofil infiltráció mértékét adja meg). A GSH fehérje koncentrációváltozását 5-thio-2-nitro-benzoosav-termelés, míg a HO enzim aktivitását a bilirubin-termelés spektrofotometriás mérésével határoztuk meg.

A TNBS-kezelés hatására szignifikáns gyulladást tapasztaltunk, mely lecsökkentette a GSH szintet és emelte a HO enzim aktivitását. A HO indukáló szerek közül a hemin nem befolyásolta, míg a SASP alkalmazása jelentősen növelte a GSH szintet. BSO kezelés megemelte a HO aktivitást, míg a NAC kezelés csökkentette azt.

A gyulladási paraméterek és az MPO enzimaktivitás értékei megfelelnek a fenti változásoknak. A TDZD-8 kezelés önálló alkalmazása csökkentette a gyulladási paramétereket, viszont megszüntette a hemin és a NAC kedvező hatását.

Eredményeink alapján elmondható, hogy a GSH illetve a HO rendszer inhibitor alkalmazása csökkenti a indukciója, illetve a GSK-3 béta gyulladások mértékét. A GSH és HO rendszerek a kapott adatok szerint egymással kölcsönhatásban működnek. A TDZD-8 nem várt módon negatívan befolyásolta a HO és GSH indukáló szerek kedvező hatását.

ÁllatÉt

Az NCX blokkoló SEA0400 hatása az intracelluláris kalcium tranziensre diabéteszes nyúl izolált balkamrai szívsejtjein

Szepesi Judit

Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Tóth András, Dr. Varga Csaba

Az 1-es típusú diabétesz általában az összes eset 10%-át teszi ki, és Magyarországon is egyre gyakrabban fordul elő. A szív- és érrendszeri elváltozások a cukorbetegség leggyakoribb halálozási okai közé tartoznak. Diabéteszes szívizomban számos elektrofiziológiai paraméter mellett a Ca^{2+} homeosztázis is jelentősen sérül. A diabéteszes kardiomiopátia során kialakuló intracelluláris kalcium homeosztázis zavarok a relaxációs képesség romlásához, végső soron a szív pumpafunkciójának súlyos gyengüléséhez vezetnek. A diasztolés diszfunkció kialakulásának pontos mechanizmusa még nem tisztázott, de a pumpafunkció romlásának patomechanizmusában a Na^+/Ca^{2+} kicserélő fokozott működésének jelentős szerepet tulajdonítanak. Jelen munkánk célja az intracelluláris Ca^{2+} tranziensek kinetikájának meghatározása, valamint a szelektív NCX gátló SEA0400-nak az intracelluláris kalcium háztartásra gyakorolt hatásának vizsgálata volt diabéteszes nyúlból izolált szívizomsejteken.

Kísérleteinkben új-zélandi 1-1,5 kg-os nyulakat használtunk. A kísérletes diabéteszt egyszeri intravénás alloxán injekcióval (145 mg kg^{-1}) hoztuk létre. A szívekből enzimatis eljárással kamrai szívizomsejteket izoláltunk. A kontroll és diabéteszes nyulakból származó szívizomsejtek $[Ca^{2+}]_i$ tranzienseit fluoreszcens Ca^{2+} indikátor (Fluo-4) segítségével detektáltuk folyamatos téringelés (1 Hz) mellett normál Tyrode oldatban, illetve $0,3 \mu\text{M}$ SEA0400 szelektív NCX gátló alkalmazását követően. A kontrakció alatti sejttrövidülést „video edge” detektorral követtük nyomon.

A kísérletes diabéteszben a diasztolés Ca^{2+} szint megnövekedett, viszont a Ca^{2+} tranziensek amplitúdójában csak kismértékű növekedést tapasztaltunk. Ugyanakkor a tranziensek félidőállandója szignifikánsan, több mint 20%-kal megnyúlt ($299 \text{ ms} \pm 20$; $361 \text{ ms} \pm 43$), a kalcium eltávolítás pedig jelentősen lelassult. Az NCX gátlást követően a diasztolés Ca^{2+} szint és az amplitúdó nem változott. A diabéteszben megnövekedett időállandó $0,3 \mu\text{M}$ SEA0400 hatása alatt tovább növekedett ($306 \text{ ms} \pm 16$; $420 \text{ ms} \pm 43$) a kontroll mérésekhez képest.

Eredményeink azt sugallják, hogy a diabétesz hatására kialakuló diasztolés $[Ca^{2+}]_i$ és a tranziens időállandó növekedés részben a csökkent NCX aktivitásból, másrészt a csökkent SERCA aktivitásból adódik. Egy szelektív NCX blokkád tovább rontja a Ca^{2+} eltávolítást, ezért diabéteszben növelheti a hirtelen szívhalál kockázatát.

ÁllatÉt

**Ekdizon szerepe a gyűrűmirigy hipertrófia gátlásában
ecetmuslicában**

*Tomisa Bernadett
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak*

Témavezető: Dr. Maróy Péter

Az ekdizon, az egész rovarvilágban elterjedt és nagy jelentőséggel bíró vedlési hormon. Bioszintézis útvonala a közelmúltban tárult fel. A lárvális ekdizon bioszintézis helye a gyűrűmirigy (RG). Termelésének egyik fő szabályozó génje az mld. Az amorf allélek első lárvá stádiumban letálisak. A mutánsok egyik jellegzetes fenotípusa a megnagyobbodott, hipertróf gyűrűmirigy.

Célunk volt, hogy megállapítsuk az mld gén termékének közvetlen hiánya vagy annak következménye okozza a hipertrófiát. FLP-FRT rendszerrel RG-ben indukált amorf mld mozaikokban vizsgáltuk a fenotípus autonóm jellegét. Azt találtuk, hogy a mozaikfoltokban a homozigóta mld mutáns és vad típusú RG sejtek mérete nem különbözik. Vagyis az mld hatása nem autonóm jellegű. Ez az eredmény meglepő, hisz az mld génterméke egy DNS kötő domént tartalmazó, feltehetőleg transzkripciós faktor funkciójú fehérje. Az autonómia hiányából arra következtethetünk, hogy a RG hipertrófia nem az mld géntermék hiányának közvetlen következménye, hanem azt az alacsony ekdizon szint okozza.

Ekdizon bioszintézisben résztvevő enzimek RNS interferenciával való elcsendesítésével és az ekdizon bioszintézis farmakológiai gátlásával vizsgáltuk, kialakul-e az mld-hez hasonló nagy RG fenotípus. Eredményeink igazolták feltevésünket, mely szerint a genetikai és farmakológiai módszerekkel előállított hormonhiányos állapotok, hipertróf RG-hez vezettek.

Az ekdizon érzékelésének (egyetlen ismert útjának) kulcseleme az ekdizon receptor (EcR). Az ekdizon jelátviteli út szerepét, domináns negatív és RNS interferencia ekdizon receptor konstrukciók, gyűrűmirigy specifikus kifejeztetésével vizsgáltuk. A lárvális élet során az EcR hiánya a RG-ben nem befolyásolta az ekdizon termelést, amit jól mutatott, hogy a lárvák növekedtek és vedlettek. A harmadik lárvastádium végére azonban kialakult a nagy RG fenotípus. A megfigyelések igazolják, hogy a RG növekedését a normális fejlődés során az ekdizon gátolja és ez a gátló hatás az EcR-on keresztül valósul meg.

Állatökológia tagozat

Időpont: Április 8. 15:00

Terem: N épület, 245. terem

A zsűri elnöke: **Dr. Rózsa Lajos**, tudományos főmunkatárs
Magyar Természettudományi Múzeum, MTA
Állatökológiai Kutatócsoport

tagjai: **Dr. Erős Tibor**, tudományos főmunkatárs
MTA Balatoni Limnológiai Kutatóintézet

Dr. Samu Ferenc, tudományos főmunkatárs
MTA Növényvédelmi Kutatóintézete

15:00	Babarczy Kristóf, Jászberényi Balázs	Gödöllői Premontrei Gimnázium	Kétéltűek szaporodóhely-választása a Galga mentén
15:20	Dolezsai Anna	SZIE MKK- KTI	Génmódosított kukorica hatása a <i>Folsomia candida</i> (Collembola) fajra laboratóriumi körülmények között
15:40	Horváth Barbara, Pető Katalin	PTE TTK	A gyarapodás és a populáció- növekedési ráta együttes becslése mozaikos élőhelyen pirók erdeiegeér szubpopulációknál
16:00	Jósvai Júlia Katalin	ELTE TTK	Kairomonális hatás gyakorlati alkalmazása társas redősszárnyú darazsak (Vespidae) csapdázásában
16:20	Néder László, Varga Ágnes	PTE TTK	Rágcsáló populációk térbeli asszociáltsága különböző struktúrájú erdei élőhelyek használatában
16:40	Szünet		
16:50	Soltész Zoltán	ELTE TTK	A kiskunsági szikes puszták három gyalogcincér fájának (Coleoptera, Dorcadion) ökológiai vizsgálata
17:10	Szalárdy Orsolya	SZTE TTIK	Hangyaközösségek tájleptéktű mintázata három Tisza-menti habitatkomplexben
17:30	Szórádi Tamás	ELTE TTK	A barátposzáta (<i>Sylvia atricapilla</i>) vonulásának időbeli változása
17:50	Végh Attila	SZIE ÁOTK	Szárazföldi ászkarák-testvér-fajok (<i>Trichoniscus</i> spp.) taxonómiai, biogeográfiai és ökológiai kérdései

ÁllatÖko

Kétéltűek szaporodóhely-választása a Galga mentén

*Babarczy Kristóf, Jászberényi Balázs
Kutató Diákok Országos Szövetsége
Gödöllői Premontrei Gimnázium*

Témavezető: Kerényi Zoltán

Mivel a kétéltűek Földünkön a legveszélyeztetettebb állatsoportok közé tartoznak, napjainkban különös fontosságúak a kétéltűek élőhelyeinek feltérképezésére és életfeltételeinek kutatására irányuló vizsgálatok.

2007 és 2008 tavaszán nyílt lehetőségünk a Galga-patak mentén élő, az egykor mocsaras, lápos biotópok helyén mesterségesen létesített kis tavakban szaporodó kétéltűfauna felkutatására.

A vizsgált terület a Hatvani-sík kistáj része, a Galga-patak Hévízgyörk és Tura közti szakasza mentén húzódik. Mára a természetes életközösségek csaknem teljesen eltűntek. A táj elsősorban kultúrtáj, jelentős részben mezőgazdasági művelés alatt áll. Területünkön alapvetően 3 fajta vízteret találunk, melyek szaporodó helyként szóba jöhetnek a kétéltűek számára: öntözés céljára létrehozott tavakat és vízelvezető csatornákat, valamint lefolyástalan árkokat.

Kutatómunkánk faunisztikai jellege mellett kíváncsiak voltunk a fajok egymáshoz viszonyított arányára is. Kerestük a választ arra a kérdésre is, hogy az egyes víztereket mi alapján részesítik előnyben a kétéltűek. Továbbá meg akartuk tudni azt is, hogy az emberi létesítmények (vasút, utak, összeérő települések) által valóban izolált területről van-e szó, illetve, hogy mik azok a főbb veszélyeztető tényezők, amelyek a Galga-mentén a kétéltűek fennmaradását korlátozhatják.

A vizsgált területen 9 fajt azonosítottunk. A vízterek fizikai, kémiai és biológiai paramétereit összevetve a bennük talált fajszámmal és egyedsűrűséggel megállapítható, hogy a szaporodóhely kiválasztásában fontos tényező az, hogy a víz állóvíz legyen, az oxigén telítettség tartósan 40% felett legyen, a víz felszíne ne legyen leárménykolva és a közelben legyen olyan erdőfolt, ahová a kétéltűek bizonyos fajai elhúzódhatnak a szaporodási időszak elteltével. A három település körzetében vizsgált terület izoláltnak tűnik. Esős estéken a településeket átszelő utak és vasúti töltések mentén végzett kétéltűszámlálások tapasztalata szerint távolabbi telelőhelyekről még a nagyobb vándorlási sugárral rendelkező fajok sem érkeznek a vizsgált vízterekhez. Betelepülési lehetőséget egyedül a Galga-patak medrén keresztül tudunk feltételezni, de azt is inkább a nyárvegi – ősz eleji, vizekből történő „kirajzás” után.

Az országgszerte ismert, kétéltűeket veszélyeztető tényezők mellett a helyi veszélyeztető tényezők közül kiemelhetjük az illegális személtlerakásokat, magára hagyott tavak esetén az eutrofizációt, a tavakból történő öntözést és az erdők és vízterek közötti területek felszántását.

ÁllatÖko

Génmódosított kukorica hatása a *Folsomia candida* (Collembola) fajra laboratóriumi körülmények között

Dolezsai Anna

Szent István Egyetem, Természetvédelmi mérnök BSc szak

Témavezető: Dr. Bakonyi Gábor

A világon 2007-ben már jelentős területen, 21,2 millió hektáron termesztettek génmódosított kukoricát. A vetésterület dinamikusan növekszik, évente mintegy 15-20%-al. A környezeti hatástanulmányokra ezért nagy hangsúlyt kell fektetni.

Vizsgálataimat az EU-ban termesztési engedéllyel rendelkező, MON 810 YieldGuard nevű, Cry1Ab toxint termelő kukoricavonal rezisztens kukoricával végeztem, az ökotoxikológiai kísérletekben gyakran használt *Folsomia candida* (Collembola) fajon. Ez a talajlakó faj ISO szabványban szereplő szervezet (ISO 11267:1999, reprodukciós teszt). Talajokban mindenféle gyakori. Nem célszervezete a Cry1Ab toxinnak. Mivel világszerte elterjedt és laboratóriumban könnyű tartani mellékhatás vizsgálatokban gyakran használják.

Laboratóriumi törzstenyészetből származó állatokon különböző populációs paraméterekre (mortalitás, peteszám), valamint táplálékfogyasztásra gyakorolt hatásokat vizsgáltam.

Megállapítottam, hogy a Cry1Ab toxint termelő kukoricán kevesebb petét raktak az állatok, és kevesebbet is fogyasztottak a növényből. A kapott eredmények alapján nem dönthető el, hogy a különbség a toxin, vagy a növény egyéb tulajdonsága miatt van-e?

Egy új módszer segítségével a kukorica és a toxin hatását is el akartam különíteni egymástól. A két különböző kukoricavonal hatásában ezzel az eljárással nem találtam különbséget. Az eredmények alapján azonban nem állapítható meg, hogy mindez azért van, mert a toxinnak valóban nincs hatása, vagy pedig azért, mert a legmagasabb tesztelt koncentráció is mindössze körülbelül az egyharmada volt a növények levelében átlagosan mérhető toxintartalomnak.

Az eddigi filogenetikai kutatások alapján a *F. candida* laboratóriumi populációinak két leszármazási vonala van. RAPD-PCR módszerrel megállapítottam, hogy az általunk használt állatok egységesen az egyik vonalba tartoznak. Ez az eredmény ökotoxikológiai kísérletben, így a jelen kísérletben való alkalmazásuk szempontjából kedvező.

ÁllatÖko

**A gyarapodás és a populáció-növekedési ráta együttes becslése
mozaikos élőhelyen pírók erdeieger szubpopulációknál**

Horváth Barbara

Pécsi Tudományegyetem, Biológia BSc szak

Pető Katalin

Pécsi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Horváth Győző

Dél-Baranyában a Mattyi-tó menti mozaikos élőhelyen a kismérsők 2 éves (2002-2003) csapdázásának adatait dolgoztuk fel. Vizsgálataink során a legnagyobb gyakorisággal a pírók erdeieger jelent meg. A faj abundanciájának szezonális mintázata különbözött az egyes mintaterületeken, amit a gyakorisági eloszlás függetlenség tesztjei igazoltak. A relatív gyakoriság értékeiben jelentős csökkenést tapasztaltunk 2003-ban az A-kvadrát területén, ami a növényzet degradációjával magyarázható. Az egyes élőhelyeken megjelenő egyedeket metapopulációs megközelítésben szubpopulációinak tekintettük, melyek között migrációs viszonyokat feltételeztünk. Az átmozgások alapján modelleztük a három kvadrát, mint elkülönülő élőhely egység között a faj túlélési, visszafogási és gyarapodási valószínűségét. A modellezéshez a MARK programon belül a Pradel modellt használtuk, melynek segítségével a visszafogási, a túlélési és az egy főre jutó gyarapodási rátát együtt becsültük meg. 2002-ben az A és C mintaterületen minden egyes becsült paraméter szignifikánsan különbözött, 2003-ban azonban ugyanezen területeken csak a gyarapodás értékeiben volt szignifikáns különbség.

A modell becsülte a populáció-növekedési ráta (λ) értékeit is megadta. A modellezés eredményei alapján azt tapasztaltuk, hogy 2002-ben a C élőhelyen stabil pírók erdeieger szubpopuláció élt, azonban ez a stabilitás a 2003-as aszályos évben már nem volt megfigyelhető. A B-kvadrát esetében mindkét évben kiugró populáció-növekedési csúcs jelentkezett, melynek oka elsősorban a populációba bekerülő új egyedek (újonnan születő és bevándorló) megjelenése volt. Ha a teljes populáció értékeit, és összehasonlítottuk az egyes λ esetében vizsgáltuk a területek rátáival, akkor szembetűnő volt az eltérő növekedési vagy csökkenési trendek megjelenése. Ez bizonyította az általunk alkalmazott metapopulációs rendszer helytállóságát. A modellezésünk során kiszámoltuk a gyarapodásért felelős komponensek százalékos arányát is. 2002-ben a szubpopulációk és a teljes populáció növekedését elsősorban a bekerülő új egyedek, míg 2003-ban az adott területen túlélt, idős egyedek biztosították.

Eredményeink alapján a Pradel modellek lefutása alkalmas módszernek bizonyult a pírók erdeieger egyes szubpopulációinak növekedési vagy csökkenési trendjének megállapítására, valamint számos új ismeretet kaptunk az élőhely-generalista faj heterogén környezetben jellemző populációdinamikai mintázatáról.

ÁllatÖko

**Kairomonális hatás gyakorlati alkalmazása társas redősszárnyú
darazsak (Vespidae) csapdázásában**

Jósvai Júlia Katalin

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Tóth Miklós, Dr. Szentesi Árpád

A társas redősszárnyú darazsak (Vespidae) néhány faja (kecskedarázs - *V. vulgaris*, német darázs - *V. germanica*, lódarázs - *V. crabro*) gyümölcséréskor jelentős károkat okozhat a szőlőkben, gyümölcsösökben, az éréfélben lévő gyümölcsök megrágásával, valamint csípésükkel komoly egészségügyi problémát jelentenek. Emiatt világszerte súlyponti kérdés a felszaporodott darázspopulációk gyérítése. Igen hatékony és környezetkímélő módszer a kártevők csapdázása. A csapdákat megfelelő sűrűségben és számban kirakva, a kártétel csökkenthető. A jelenleg ismert leghatékonyabb szintetikus darázscsalétek az izobutanol és ecetsav elegye, amelyet Peter Landoltl és mtsai. (1999) fedeztek fel erjedő melaszos csalétekből felszabaduló anyagokat vizsgálva.

A rovarok közti kémiai kommunikációban szerepet játszó szemiokemikáliák közül a feromonokat régóta és széleskörűen alkalmazzák a növényvédelemben használatos csapdák csalétekeként. Ezen anyagok másik csoportja a kairomonok, amelyek a fajok közötti kémiai kommunikációban vesznek részt, és ahol a kommunikáció eredményeként létrejött válasz a felfogó szervezet számára előnyös, a kibocsátó számára hátrányos. Kísérletes bizonyítékok állnak rendelkezésre, hogy a darazsak egyes prédarovarjaikat kairomonális jelek alapján találják meg (Hendrichs és mtsai. (1994) – földközi tengeri gyümölcslegyek feromonja; Aldrich és mtsai. (2004) – poloska-vegyületek). Mivel ismeretes, hogy a darazsak szívesen ragadozzák a házi légy példányait, kíváncsiak voltunk, hogy a házi légy szintetikus feromonja, a (Z)-9-trikozén mutat-e a földközi-tengeri gyümölcslegyek feromonjához hasonló módon, feltételezhetően kairomonális hatást a darazsakra.

Előzetes kísérletekben, ahol a darazsak még nem lettek fajra meghatározva, a trikozén hozzáadása az izobutanolos csalétekhez szignifikánsan növelte a fogott darazsak számát. Ez alapján 2006-ban egy egész szezonos kísérletet állítottunk be, melyben vizsgáltuk, hogy van-e különbség az egyes darázfajok válaszában. Eredményként azt kaptuk, hogy a házi légy szintetikus feromonja jelentősen növelte a fogott német- és kecskedarazsak számát.

Vizsgálataink eredményeképpen a trikozént gyakorlatilag is alkalmazni lehet, hozzáadásával növelhető a jelenleg alkalmazott szintetikus darázscsalétek hatékonysága.

ÁllatÖko

Rágcsáló populációk térbeli asszociáltsága különböző struktúrájú erdei élőhelyek használatában

*Néder László, Varga Ágnes
Pécsi Tudományegyetem, Biológus szak*

Témavezető: Dr. Horváth Győző

A Dráva mentén 2000-2008 között folyt a kisemlősök csapdázásos monitorozása. 2008-ban három terület párhuzamos vizsgálata valósult meg: védett égerliget (A: Lankóci-erdő, HU), újraerdősödő terület (B: Lankóci-erdő, HU), erdészeti kezelés alatt álló terület (R: Répási-erdő, CRO). A mintavételt fogás-jelölés-visszafogás (CMR) módszerrel, 5 éjszakai periódusokban végeztük 2008 júliusa és októbere között. A három különböző vegetációszerkezetű erdőtagban az elevenfogó dobozcsapdákat 11x11-es hálóban, 1 ha-os területen helyeztük el. Az adatok elemzése során három domináns faj, a sárganyakú erdeieger, a pirók erdeieger és a vöröshátú erdei pocok mennyiségi viszonyait, valamint térbeli asszociáltságát vizsgáltuk. A térbeli elemzéseket Biotas program segítségével végeztük, az asszociáltságot egyrészt a csapdapontokon történő előfordulás alapján Yates-korrekciós χ^2 -érték, másrészt a vizsgált fajpárok együtt-előfordulási indexének számításával vizsgáltuk.

Eredményeink alapján a három faj aránya jelentősen eltért a különböző erdőtípusokban, tehát a vegetáció struktúrája erősen befolyásolta a domináns fajok mennyiségi viszonyait. A védett égerligetben a vöröshátú erdei pocok dominanciája volt megfigyelhető. Az újraerdősödő területen a sűrű vegetációt kedvelő pirók erdeieger csak a nyári hónapokban volt magasabb arányban jelen, népességének további várt növekedését azonban az erdei pocok szétterjedése megállította. Az újraerdősödő területen a pirók erdeieger és az erdei pocok sűrűségének egymásra hatása jelentősen érvényesült, ami a térbeli mintázatban is megnyilvánult. Szignifikáns térbeli asszociáltságot csak e két faj között, ezen az élőhelyen mutattunk ki. A ritkább aljnövényzettel jellemzett horvátországi erdőben nem volt ilyen időbeli eltolódás a magasabb gyakoriságú erdei pocok és a sárganyakú erdeieger között. A Répási-erdőben tehát e két domináns faj stabil együttélését bizonyították eredményeink, amit a térbeli szegregáció biztosított.

Munkánk során az erdei élőhelyek jellemző generalista rágcsálóinak populációdinamikáját vizsgáltuk, az adatok alapján mégis jelentős tér és időbeli különbség volt megfigyelhető. Így e fajok is alkalmasak a különböző erdőterületek élőhelyi állapotának jellemzésére, az élőhelyek különböző forráskészleteiből adódó populációdinamikai különbségek vizsgálatára.

ÁllatÖko

**A kiskunsági szikes puszta három gyalgcincér fájának
(Coleoptera, *Dorcadion*) ökológiai vizsgálata**

Soltész Zoltán

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Peregovits László, Dr. Kövér Szilvia, Dr. Szentesi Árpád

Célkitűzés: Egyrészt a fokozatosan védett, Natura 2000-es pusztai gyalgcincér (*Dorcadion fulvum cervae*), valamint a két- és nyolcsávós gyalgcincér fajok (*D. pedestre*, *D. scopoli*) populációméretének becslése, másrészt természetvédelmi célú monitorozási protokoll kialakítása röpképtelen, talajon mozgó bogárfajokra.

E cincérek lárvái 2 évig fejlődnek; lágyszárúak gyökerével táplálkoznak. Az imágók röpképtelenek, áprilistól júliusig rajzanak. Kunszentmiklós melletti ürmőpusztán egy juh- és egy marhalegelőn egy-egy 20×20 m területen egy sűrűbb (2,5×2,5 m) és egy ritkább (5×5 m) csapdahálóban telepítettünk összesen 636 élvefogó talajcsapdát. A csapdákat 2–4 naponként ürítettük. Mintavételek száma 2005-ben 14, 2006-ban és 2007-ben pedig 21 alkalom volt. Minden cincért egyedi azonosítóval jelöltük meg.

A populációméret becsléséhez Jolly-Seber modellt, a modell szelekcióhoz pedig az kvázi Akaike információs kritérium (QAICc) értéket használtam. A populációméretet 2005-ben és 2006-ban nem különböztek jelentősen, de 2007-ben közel egy nagyságrenddel emelkedtek mindegyik fajnál, azonban a két legelőtípuson nem egyformán. A becslések a sűrűbb csapdaháló esetén jóval pontosabbnak bizonyultak.

A mozgásmintázat elemzése pozitív kapcsolatot mutatott a mozgás intenzitása és a fogási valószínűség között minden fajra és nemre.

A cincérek térbeli eloszlását vizsgálva kiderült, hogy a még látszólag teljesen homogén élőhelyen elhelyezett szabályos csapdahálóban tapasztalt fogásszámok is aggregáltak.

Vizsgálataink rámutattak, hogy az évek közötti jelentős egyedszámkülönbségek miatt a rovarpopulációk tudományos igényű monitorozása ugyanazon a helyen, egymást követő években elvégzett intenzív mintavételen kell, hogy alapuljon.

ÁllatÖko

**Hangyaközösségek tájleptékű mintázata három Tisza-menti
habitatkomplexben**

Szalárdy Orsolya
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Gallé László

Az Alsó-Tiszavidék három tájegységének (Tösedő-Nyárlőrinc, Dóc és Vesszős) összesen 30 élőhelyéről származó mintából 44 fajt képviselő 16588 egyed faji szintű meghatározását végeztük el. A Tisza völgyére három új fajt mutattunk ki.

A hangyaközösségek tájstruktúra percepciója jó indikációs képességüket bizonyítja. Az egyes tájegységeken belüli élőhelyek hangyaközösségek alapján Bray-Curtis indexszel számított hasonlóságok (C) átlagának értéke alacsony: 0,083 és 0,132 között változott, a hasonlósági értékek variációs koefficiensei (CV) viszont magasak: 1,37-1,58-ig. Azonos élőhely-és fajszámmal konstruált null-modellektől (random referencia, 1000 ismétlés) a C és a CV értékek minden esetben szignifikánsan különböznek ($p < 0,001$).

Az egyes habitatok hangyaközösségek alapján végzett ordinációs analízise (PCoA, Bray-Curtis algoritmus) alapján a strukturálisan élesen különböző (pl. gyepek és erdők), valamint az árvíznek különböző mértékben kitett élőhelyek (hullámterek és mentett árterek) válnak el egymástól. A hangyaközösségek ordinációs analízise alapján a gyepi és az erdei fajok különültek el. A cluster analízis alapján nem kaptunk határozottan elhatárolódó korrelatív fajcsoportokat.

A táji szintű béta-diverzitás (Whittaker-index) átlagos értéke $2,22 \pm 0,66$, ami jól megfelel a más ártereken kapott hangyaközösségi adatoknak. Az ugyancsak béta-diverzitással összefüggő táji fajszám-lokális fajszám függvény (Cornell-Lawton) egyaránt erősen szignifikáns értékeket szolgáltatott a lineáris és telítődési modell tesztelésekor ($p = 0,000002$ körül mindkét esetben), ennek alapján elmondhatjuk, hogy a belső kölcsönhatások (pl. kompetíció) limitáló hatása mellett a közösségek összetételét más tényezők is befolyásolják.

A potenciális miliófaktorok és a hangyaközösségek közötti korrelációs analízis (szimilaritási mátrixok korrelációja és Mantel-teszt, majd Bonferroni-korrekció) alapján a vizsgált közösségek a növényzeti architektúrával, az erdők korával, a holt ágak mennyiségével jól korreláltak, nem találtunk azonban szoros összefüggést a talaj fizikai tulajdonságaival és a növényzet faji összetételével. Igen jó a kongruencia a hangyák és az egyéb epigéikus csoportok között ($r = 0,485$, $p = 0,0006$).

A hangyafajok gyakoriság és ritkaság vizsgálata során kapott eredmények összehasonlítva előző tiszai kutatásokkal, azokkal erősen korrelálnak ($r = 0,549$, $p = 0,0002$). Egyéb tiszai és szibériai adatokkal összevetve is nagyon szorosan illeszkedést tapasztaltunk.

Igen nagy diverzitású közösségi komplex él a Tisza-mente és kiskunsági régió közötti átmenetet jelentő nyárlőrinci erdőben, ez természetvédelmi jelentőségét alátámasztja.

ÁllatÖko

A barátposzáta (*Sylvia atricapilla*) vonulásának időbeli változása

Szórádi Tamás

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológia BSc szak

Témavezetők: Dr. Csörgő Tibor, Nagy Krisztina

Az utóbbi évtizedekben tapasztalható klímaváltozás, és az ehhez kapcsolódó globális felmelegedés hatására változtak az olyan belső ritmushoz kapcsolódó jelenségek, mint a növények esetén a virágzás, lombhullatás, és az állatok esetén a vonulás. A vonuló madárfajoknál is számos változást megfigyeltek: a tavaszi és az őszi vonulás időzítése módosult, a költési időszak hosszabb lett, a fészkelési területek egyre északabbra tolódtak, új telelő területekre jelentek meg, megváltozott a különböző fajok földrajzi eloszlása és a populációk összetétele. A változások mértéke területenként is eltérő lehet, de függ az adott faj életmenetétől, esetleg fajon belül a kortól és ivartól is.

Vizsgálatunkban az Ócsai Madárvártán 1984-2007 között fogott közel 45 ezer barátposzáta adatait használtuk. Az egyedeket függőhálóval fogtuk, sorszámozott gyűrűvel jelöltük, majd meghatároztuk a korukat és nemüket, és az Actio Hungarica szabályai szerint felvettük biometriai adataikat. A kor és ivarcsoportokat külön kezeltük.

A vizsgálat célja annak a kérdésnek a megválaszolása volt, hogy változott-e a közel negyed század alatt a tavaszi - őszi vonulás időzítése a különböző kor és ivarcsoportoknál, és vannak-e biometriai változások.

Eredmények:

- A tavaszi vonulás során a hímek vonulási hullámának mediánja 2,5 nappal korábbra tolódott, a tojók esetében nem változott.
- Az őszi vonulási hullám mediánja az öreg hímeknél 14; az öreg tojóknál 17; az összes fiatalnál 15 nappal későbbre tolódott.
- Az őszi átlagos testtömeg az öreg hímeknél 0,64; öreg tojóknál 0,74; fiatal tojóknál 0,93 és a fiatal hímeknél 1,03 grammal csökkent.
- Az őszi átlagos szárnyhossz az öreg tojóknál 0,9 mm-el, az öreg hímeknél 1,0 mm-el növekedett, a fiatal egyedek esetén a növekedés nem szignifikáns, de tendenciaszerűen volt.

Az eredmények szerint mindkét szezonban jelentősen változott a vonulás időzítése, és változott az átvonuló állomány összetétele is. Feltehetően az észak felé kitolódó areahatár és növekvő költéssiker miatt nőtt az északabbi eredetű madarak aránya. Ez utóbbit valószínűsíti az őszi átlagos testtömeg szignifikáns csökkenése és az átlagos őszi szárnyhossz tendenciaszerű növekedése.

ÁllatÖko

Szárazföldi ászkarák-testvérfajok (*Trichoniscus* spp.) taxonómiai, biogeográfiai és ökológiai kérdései

Végh Attila

Szent István Egyetem, Alkalmazott zoológus szak

Témavezetők: Dr. Hornung Erzsébet, Dr. Matty Berg

Vizsgálatunk célja két, Hollandia területén közönséges szárazföldi ászkafaj (*Isopoda*, *Oniscidea*), a *Trichoniscus provisorius* és *T. pusillus* elterjedésének és feltételezett niche különbözőségeinek vizsgálata, valamint egy ennek alapjául szolgáló korrekt taxonómiai elkülönítési módszer kidolgozása. Az ősbibb *T. provisorius* diploid, szexuálisan szaporodó, míg az abból származtatható testvérfaj, a *T. pusillus* triploid, parthenogenetikusan. Morfológiai elkülönítésük csak hímek esetében lehetséges. Korábbi munkák az ivararányok vizsgálatával állapították meg a fajösszetételt együttes előfordulás esetén (labortenyészetben tapasztalt ivararány: *T. provisorius* ♂:♀=1:1 és *T. pusillus* 1:100). Az eddigi gyűjtésekben talált ivararányok alapján feltételeztük, hogy az elterjedési mintázat kialakításában az eltérő alapkörzeteken kialakult talajtípusok jellemző tulajdonságai fontos szerepet játszhatnak.

A gyűjtés standard módszerekkel történt (1 m²; 45 perc). A mintavételi helyek (51) kiválasztása az ország területét egyenletesen lefedve, a talajtípusok (homok, agyag, tőzeg), az alapkörzet kora (holocén, pleisztocén) és a klimatikus jellemzők figyelembevételével történt. Az élőhelyi sajátosságoknak az ászkarák elterjedését befolyásoló tényezőit (lokálitás, talaj-, avar-, habitat paraméterek) gyűjtési adatlapon rögzítettük. A talajmintákat laboratóriumban elemeztük (pH, Ca tartalom, víztartó képesség). Az egyedek fajsztintú elkülönítésére az általunk meghatározott 18S rDNS szekvenciák eltéréseit felhasználva restriktions fragmentum hosszúság polimorfizmus (RFLP) technikán alapuló módszert dolgoztunk ki.

Munkánk során bizonyítottuk, hogy a populációk fajösszetételének meghatározására korábban használt módszerek (ivararány, nőstény méret/utódszám) nem alkalmasak. Az alkalmazott molekuláris technika hiteles taxonómiai elkülönítést tesz lehetővé. A fajok elterjedését meghatározó legfontosabb tényezőként a talaj fizikai és kémiai jellemzőit tekinthetjük. Ezek eltérése szorosan összefügg az alapkörzet kialakulásának korával. Eredményeink szerint holocén talajokon kevert populációk, míg a pleisztocén eredetű aljzaton kizárólag *T. pusillus* populációk találhatóak. Holocén talajokon előforduló *T. pusillus* egyedekben talált allél a *T. provisorius* fajéhoz közeli ökológiai tulajdonságokat eredményez.

A fentiek alapján kijelenthetjük, hogy a két faj között niche különbözőség áll fenn: a *T. pusillus* a környezeti változók széles skáláján képes elterjedni, míg a *T. provisorius* csak szűk határokon belül fordul elő. A két faj ökológiai összehasonlításával igazoltuk azt a hipotézist, amely szerint a parthenogenezis és/vagy a polyploidia előnyt jelent a szétterjedésben és a szélsőséges körülmények közötti túlélésben.

Biokémia I. tagozat

Időpont: Április 9. 09:00

Terem: N épület, 228. terem

A zsűri elnöke: **Prof. Hegyi György**, egyetemi tanár
Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biokémiai Tanszék

tagjai: **Dr. Rákhely Gábor**, egyetemi docens
Szegedi Tudományegyetem, Biotechnológiai Tanszék

Skodáné Dr. Földes Rita, egyetemi docens
Pannon Egyetem, Szerves Kémia Intézeti Tanszék

09:00	Bravics Balázs	DE TTK	Retinoid X receptor hiányának vizsgálata egér peritoneális makrofágokban és csontvelői eredetű dendritikus sejtekben
09:20	Egri Péter	ELTE TTK	A kettes-típusú dehidáz enzim ubikvitinációjának vizsgálata
09:40	Jancsó Zsanett, Zsadányi Dóra	SZTE TTIK	Iszkémiás szívbetegség koszorúér- kezelése befolyásolhatja a granulociták aktiváltságát
10:00	Nagy Gergely	DE TTK	A retinoid és D-vitamin receptor (RAR és VDR) közös célgénjeinek tanulmányozása humán monocita eredetű dendritikus sejtekben
10:20	Vass Koppány Csaba	SZIE ÁOTK	Az élesztő szekurin (Pds1p) szerkezeti jellemzése
10:40	Zádor Ferenc	SZTE TTIK	A nátrium ion gátlás biokémiai mechanizmusának vizsgálata opioid receptor kötési tesztekben patkány agyi membránpreparátumban

BioKém_1

Retinoid X receptor hiányának vizsgálata egér peritoneális makrofágokban és csontvelői eredetű dendritikus sejtekben

Bravics Balázs

Debreceni Egyetem, Molekuláris biológus szak

Témavezetők: Dr. Nagy László, Pap Attila

A magreceptorok alapvető szerepet töltenek be a transzkripció szabályozásában. A retinoid X receptor a magreceptor szupercsalád tagja, képes heterodimert alkotni számos más magreceptorral, többek között az RAR-rel, LXR-rel és a PPAR-rel is és így válik funkcióképesé. Munkacsoportunk már karakterizálta, hogy a humán monocita-dendritikus irányú differenciálás folyamatában a különböző magreceptor ligandok milyen változásokat idéznek elő, és ezért célul tűzttem ki, hogy megvizsgáljam a retinoid X receptor (RXR) szerepét egér peritoneális makrofágok és a csontvelőből differenciáltatott dendritikus sejtek génextpressziós profiljában és funkciójában.

A kísérletekhez RXR α /fl RXR β -/- LysCre és RXR α +/+ RXR β -/- LysCre egereket használtunk, mert az RXR α teljes knock-out még embrionális korban letális, a cre/loxP rendszerrel viszont sejtspecifikusan kiüthetjük az RXR α -t. Az vizsgáltuk, hogy ha az RXR α kivágódik a dendritikus sejtekben és a makrofágokban, akkor az milyen változásokat hoz az RXR-rel heterodimerben lévő más magreceptorok célgénjeinek expressziójára és a sejtek funkcióinak ellátására.

A peritoneális makrofágokat izolálás után 48 óráig tartottuk sejtenyészítő edényben és ligandokkal kezeltük meg (RSG, AM580, LG268, T09), míg a csontvelői őssejtekből kétféle citokint használva (GM-CSF és GM-CSF+IL-4) 9 nap alatt dendritikus sejtet differenciáltattunk és közben hasonlóan ligandokkal kezeltünk. A kivágódás hatékonyságát RT-PCR segítségével ellenőriztük. Összehasonlítottuk a génextpressziós változásokat RT-QPCR technika segítségével mindkét sejt esetén, és a peritoneális makrofágoknál *in vivo* funkciót is vizsgáltunk, a fagocitózist.

Az adataink alapján azt láttuk, hogy azokban az egyedekben, ahol a kivágódás hatékony volt, a ligandkezelések hatására bekövetkező indukció mértéke jelentősen lecsökkent a kontroll egyedekhez képest. A dendritikus sejtekben a kivágódás hatékonysága kisebb volt, mint a peritoneális makrofágokban. A fagocitózisban nem láttunk különbséget a kontroll és a RXR α knock-out makrofágok között.

Eddigi eredményeink alapján azt mondhatjuk, hogy az RXR α kivágódásával funkciókiesés nem, de génextpressziós változások kialakulnak a mieloid sejtekben.

BioKém_1

A kettes-típusú deiodáz enzim ubikvitinációjának vizsgálata

Egri Péter

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Gereben Balázs

A pajzsmirigyhormonok alapvetően fontos szerepet játszanak az egyedfejlődés, ezen belül az idegrendszer fejlődése, valamint az alapanyagcsere szabályozásában. A pajzsmirigy fő szekretoros terméke egy stabil prohormon, a tiroxin (T₄), aminek egy jódot lehasításával T₃-má kell alakulnia ahhoz, hogy kötődni tudjon magreceptorához és biológiai hatásait kifejthesse. A T₄-T₃ átalakulás kulcsfehérjéje a kettes-típusú deiodáz (D₂) szeloenzim. Mivel az enzim által keletkező T₃ biológiailag rendkívül aktív molekula, ezért a D₂ aktivitására egy többkomponensű, szigorúan szabályozott rendszer felügyel. Ennek fontos eleme a D₂ fehérje ubikvitináció kiváltotta aktivitás csökkenése, ami egyrészt a 26S proteaszómában történő lebomlásban, másrészt a D₂ dimerek reverzibilis konformáció változásában ölt testet. Az ubikvitin lánc a D₂ 237-es 244-es konzervált lizinjeihez kapcsolódik, melyek együttes mutációja gátolja az enzim ubikvitinálhatóságát. Az enzimesalád másik tagja, az egyes-típusú deiodáz (D₁) nem ubikvitinálódik és a D₂ ubikvitinálható lizinjei a D₁ homológ szakaszából hiányoznak.

Vizsgáltuk a deiodázok eltérő ubikvitinálhatóságának molekuláris összetevőit. A két lizinek a deiodázok eltérő ubikvitinálhatóságában játszott szerepét tisztázandó mutanegezissel beillesztettük azokat a D₁ fehérje homológ pozícióiba. A mutáns D₁ enzimaktivitása a D₂-vel ellentétben MG132 proteaszóma inhibitor hatására nem növekedett, továbbá a D₁ felezési ideje Tet-off rendszerrel vizsgálva nem mutatott csökkenést és ubikvitinált D₁ fehérjék Western blotol nem voltak kimutathatók. Ennek alapján megállapítottuk, hogy az említett két lizin jelenléte szükséges, de önmagában nem elégséges a deiodáz ubikvitináció kiváltásában.

Az ubikvitin ligázok (E3) kulcsszerepet játszanak az ubikvitinációs reakció specificitásában, ezért jellemeztük a D₂ újonnan azonosított ligázát, a Teb4-et. Összehasonlítottuk a WSB1 és a Teb4 D₂ ligázok szöveti megoszlását és in situ hibridizációval vizsgáltuk a Teb4 expresszióját az agy D₂-t expresszáló sejteiben. Vizsgálataink rámutatnak, hogy a D₂ Teb4-függő idegrendszeri ubikvitinációja tancitákban és kisagyi asztrocitákban lehetséges. Majd klónoztuk az emberi Teb4 promóterét, jellemeztük indító régióját, majd megkezdjük szabályozásának vizsgálatát. Ennek során olyan transzkripciós faktorokra koncentráltunk, amelyek T₃ szint szabályozásában betöltött szerepe már ismert. Megmutattuk, hogy a Teb4 transzkripciója NF-κB-re mérsékelten érzékeny, míg cAMP-vel nem indukálható. Adataink a D₂ molekuláris szabályozása és az idegrendszer T₃ függő folyamatait befolyásoló mechanizmusok jobb megértéséhez járulnak hozzá.

BioKém_1

**Iszkémiás szívbetegek koszorúér-kezelése befolyásolhatja a
granulociták aktiváltságát**

*Jancsó Zsanett, Zsadányi Dóra
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak*

Témavezetők: Dr. Keresztes Margit, Dr. Kiss Jánosné Dr. Deér Ara

A gyulladási mechanizmusok fontos szerepet játszanak az ateroszklerózis folyamatában. Az iszkémiás szívbetegek koronária-angioplasztikája (PCI) gyulladási reakciót válthat ki. Kutatásaink során azt vizsgáltuk, hogy a stabil angina pectoris (SAP, n=21) és az akut koszorúér szindrómás (AKSZ, n=20) betegek – közvetlenül a koszorúér-kezelés előtt, után és egy nappal később vett – vérmintáiban változik-e a granulociták aktiváltsága, illetve két gyulladási marker és egy stresszhormon plazmabeli koncentrációja.

A gyulladási markerek (laktoferrin, interleukin-6) koncentrációit ELISA módszerrel mértük, az ACTH szint meghatározása RIA-val történt. Három granulocita aktiválódási marker (L-szelektin, CD15 és laktoferrin) sejt felszíni megjelenését immunfluoreszcens áramlási citometriával határoztuk meg.

Mérési adataink azt mutatták, hogy a katéterezést követő napon a laktoferrint hordozó granulociták aránya nagymértékben, szignifikánsan csökkent mindkét csoportban. Az L-szelektin és a CD15 esetében csak kismértékű változásokat észleltünk. A vérplazma laktoferrin koncentrációja mind a stabil anginás, mind az akut csoportban közel felére csökkent a beavatkozást követően, illetve mintegy 30%-os növekedést figyeeltünk meg a beavatkozás alatt. Az ACTH stresszhormon kezdeti magas szintje a plazmában a katéterezést követő napon mindkét csoportban drasztikusan csökkent. Ez a változás az akut betegcsoportban jóval kifejezettebb volt, mivel a kezdeti ACTH szint itt rendkívül magas értéket mutatott (a maximális normál érték kétszeresét). Az interleukin-6 plazmabeli koncentrációja a katéterezés után megemelkedett a kezelés előtt mért értékhez képest mindkét betegcsoport esetében.

Eredményeinkből arra lehet következtetni, hogy a kezelés és a koszorúér szűkület csökkenése a granulocita aktiváltságot módosíthatja. Emellett főként az akut koszorúér szindrómás iszkémiás szívbetegek esetében figyelhető meg a stressz szintjének változása is, amely befolyásolhatja a granulociták viselkedését és a gyulladási reakciókat.

BioKém_1

A retinoid és D-vitamin receptor (RAR és VDR) közös célgénjeinek tanulmányozása humán monocita eredetű dendritikus sejtekben

Nagy Gergely

Debreceni Egyetem, Molekuláris biológus szak

Témavezetők: Széles Lajos, Dr. Nagy László

A humán monocita eredetű dendritikus sejtek (MoDC-k) a leghatékonyabb ismert antigénprezentáló sejtek, mivel kiemelkedően sokféle antigént tudnak felvenni, processzálni és prezentálni a limfociták számára. Jellegzetes soknyúlványú alakuk is a mozgást, az antigénkötést és a sejt-sejt kölcsönhatásokat szolgálja. Az aktív D-vitamin (kalcitriol) gátolja a MoDC-k differenciálódását és érését, amivel az immunválasz korai szakaszában tölt be fontos szabályozó szerepet. Hatására a MoDC-kben lecsökken egyes kostimuláló molekulák termelése, míg a CD14 monocita marker expressziós szintje megemelkedik. A retinoid ligandokról kevesebb információ áll rendelkezésre a MoDC-k regulációjával kapcsolatban, de bizonyított, hogy a transz-retinsav (ATRA) a kalcitrioléhoz hasonló hatásokkal is rendelkezik. Az ATRA jelenlétében differenciálódott érett DC-k több citokint termelnek, és hatékonyabban stimulálják a limfocitákat, serkentve például a plazmasejtek immunglobulin-termelését. A MoDC-k mindkét ligandot elő tudják állítani, és mindkettő magreceptorokon, a D-vitamin receptoron (VDR-en), illetve a retinsav receptorokon (RAR-okon) keresztül, transzkripciós szinten fejt ki hatásait.

Microarray eredményeink nagyszámú közös RAR α és VDR célgénre mutatnak rá humán MoDC-kben, és erre épülő kísérleteink során mRNS és fehérjeszinten is megvizsgáltuk bizonyos célgének expressziós szintjeinek változásait, e mintázatok segítségével pedig tanulmányozható a magreceptorok kooperatív viselkedése. A közös szabályozás jellege nagyon változatos: additív és antagonistá hatást is sikerült detektálnunk. A tapasztalt jelenségekre magyarázatot adhat, hogy a gének szabályozó szekvenciáin általában több válaszadó elem is megtalálható, sőt egy válaszadó elemet akár több magreceptor is felismerhet, a kialakult transzkripciós komplex pedig összetétele függvényében eltérő módon irányítja a célgén mRNS-szintű expresszióját.

A tapasztaltak jelentősége, hogy sejteink fiziológias körülmények között a két ligand együttes jelenlétére specifikus (differenciációs, növekedési, immunmodulációs vagy homeosztatis) választ adhatnak. E receptorok már eddig is farmakológiai célpontok voltak, de együttműködésükből kiindulva elképzelhetőek új, kombinációs terápiák is, például leukémiás megbetegedések ellen.

BioKém_1

Az élesztő szekurin (Pds1p) szerkezeti jellemzése

Vass Koppány Csaba
Szent István Egyetem, Alkalmazott zoológus szak

Témavezetők: Tompa Péter, Kabai Péter

A sejtosztódás során a testvérkromatidák szétválásának szabályozását a kohezin komplex emésztésével a szeparáz végzi. A szeparáz partnere, a szekurin szabályozza. A szekurin funkciója kettős, ugyanis amellett, hogy a szeparáz inhibitora, az enzim aktiválásában is fontos szerepet játszik. A metafázis-anafázis határán a szekurin ubikvitin-mediált proteolízise biztosítja a szeparáz aktiválódását. A sejtosztódás folyamata hasonlóan játszódik le minden eukariótában, ennek ellenére a szekurinok elsődleges szerkezete igen eltérő a különböző taxonokban. Az irodalomból ismert, hogy a humán szekurin egy rendezetlen fehérje, ami választ adhat a szekurinok kettős szerepére. Illetve mivel a rendezetlen fehérjék gyorsabban változnak az evolúció során, mint globuláris társaik, hiszen egy aminosav cseréje kevésbé befolyásolja szerkezetüket, ez talán magyarázatot adhat a különböző fajokban megtalálható szekurinok szekvenciális eltéréseire. Mivel azonban a más fajokból származó szekurinok szerkezete nem ismert, ezért pontos magyarázatokat még nem adhatunk.

Munkám során a bimbózó élesztő (*Saccharomyces cerevisiae*) szekurinját, a Pds1p-t tanulmányoztam *in vitro*. A klónozást követően a fehérjét *E. coli* sejtekben fejeztetem ki. A sejtek feltárását és a felülúszó kiforralását követően a fehérjét affinitás-kromatográfiás oszlopon tisztítottam.

Az előzetes, ún. IUPred-el, egy rendezetlenséget prediktáló program segítségével végzett szerkezetjólás eredménye rendezetlenségre utalt. Ennek megerősítésére a fehérjét cirkuláris dikroizmus spektroszkópiával (CD), differenciál pásztázó kalorimetriával, ¹H NMR spektroszkópiával és gél filtrálással tanulmányoztuk.

Szerkezeti vizsgálataim alapján a fehérjét rendezetlennek találtam, de nem zárható ki, hogy a fehérje több-kevesebb másodlagos szerkezeti motívumot is tartalmaz. A teljesebb kép kialakításához azonban további részletesebb vizsgálatokra van szükség.

BioKém_1

**A nátrium ion gátlás biokémiai mechanizmusának vizsgálata
opioid receptor kötési tesztekben patkány agyi
membránpreparátumban**

Zádor Ferenc
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Benyhe Sándor, Dr. Lehoczkiné Dr. Simon Mária

Az opioid receptorok integráns membránfehérjék, hét transzmembrán hélixet tartalmaznak, és működésük G-fehérjékhez kapcsolt. Ligandjai az opioidok, elsődleges hírvivők, amelyek közül az agonisták receptor-közvetített módon aktiválják a gátló típusú Gi-fehérjéket. Az antagonisták ligandok (pl. naloxon) viszont nagyobb affinitással kötődnek, de nem aktiválják a G-fehérjét. A ligand-receptor kölcsönhatás többek között reverzibilis, sztereoselektív és regulálható folyamat.

Megfigyelték, hogy a receptor-ligand kötést különböző ionok befolyásolhatják. A kation hatások között az agonista kötés nátrium-ionokkal (100-140 mM koncentrációban) történő gátlása volt a legmarkánsabb, míg az antagonisták affinitását a Na⁺ ionok jelenléte nem csökkentette. A fenti, már ismert ionreguláció pontos biokémiai mechanizmusai még ma sem tisztázottak.

Célunk az volt, hogy *in vitro* receptor kötési tesztekben megvizsgáljuk a nátrium ion gátló hatásának mechanizmusát az alábbi szempontok alapján: kompetitív módon, avagy allosztérikusan hat-e, jelenléte befolyásolja-e a receptorok számát, illetve hozzáférhetőségét.

Receptor forrásként patkány agyi membránpreparátumot használtam. Agonista ligandként egy szintetikus opioid peptidet, a [D-Ala²,NMePhe⁴,Gly⁵-ol]enkefalint (DAMGO) használtam, jelöletlen és nagy specifikus aktivitású, trícium izotóppal jelzett formában ([³H]DAMGO; 45 Ci mmol⁻¹). Homológ kompetíciós kísérleteim azt mutatták, hogy a Na⁺ ionok koncentrációfüggő módon gátolták az egyensúlyi kötés affinitását (IC₅₀, K_i), és a fiziológias értékhez közeli 100 mM-os NaCl koncentrációban szignifikánsan csökkentette (p<0,05) a ligandkötőhelyek maximális számát (B_{max}, kapacitás). Az ionregulációs gátlás ("sóhatás") és a naloxonnal mérhető kompetitív gátlás formai elkülönítését a — regulátor molekulák koncentrációjának markáns különbsége (mM-os és nM-os tartomány) mellett – a kompetíciós görbék Schild-szerinti elemzésével próbálom végrehajtani.

Biokémia II. tagozat

Időpont: Április 9. 15:00

Terem: N épület, 228. terem

A zsűri elnöke: **Prof. Csapó János**, tanszékvezető egyetemi tanár
Kaposvári Egyetem, Kémiai- Biokémiai Tanszék

tagjai: **Dr. Kerepesi Ildikó**, egyetemi docens
Kaposvári Egyetem, Növénytani és Növénytermesztési
Tanszék

Dr. Veregyházy Tamás, egyetemi docens
Szent István Egyetem, Élettani és Biokémiai Tanszék

15:00	Hajdu Adrienn	SZTE TTIK	Az ubiquitilálás szerepe a transléziós DNS szintézis szabályozásában
15:20	Huszár Krisztina	ELTE TTK	Az ABCC6 fehérje R1339C és R1357W PXE-t okozó mutánsainak vizsgálata
15:40	Kiss Beáta	DE TTK	A Nur77 transzkripciós faktor szerepe a retinsavak által kiváltott apoptózisban egér tímuszsejteken
16:00	Lakatos Petra	DE TTK	Kémiai, és sejtalapú módszerek adaptációja HTS (high throughput screening) rendszerbe: citoprotektív és antioxidáns hatású vegyületek szűrése
16:20	Pribér János Krisztián	TE TTK	A rezveratrol és a SZV1361 rezveratrol analóg hatása az LPS-indukálta gyulladásos folyamatokra egér RAW 264.7 sejtvonalon
16:40	Szünet		
16:50	Schnúr Andrea, Legány Nóra	SZTE TTIK	Na ⁺ /H ⁺ cserélők aktivitásának vizsgálata gyulladásos bélbetegségekben
17:10	Zboray Katalin	ELTE TTK	Egy proteáz-inhibitor fehérje irányított evolúciója

BioKém_2

**Az ubiquitilálás szerepe a transzléziós DNS szintézis
szabályozásában**

Hajdu Adrienn

Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Haracska Lajos, Dr. Burkovics Péter

A DNS egy igen sérülékeny molekula, amelyet nap, mint nap számos károsodás ér. A DNS hibák felhalmozódása a sejtben genomikus instabilitáshoz, mutációk kialakulásához, rákos elfajuláshoz vagy sejthalálhoz vezethetnek. Ezért minden sejtben számos DNS hibajavító rendszer van. DNS hiba az S fázisban lévő sejtekben is található, ami nagyon veszélyes, mert a DNS hibáknál a replikációs villa könnyen elakadhat, mert a polimeráz δ nem vagy csak kis hatékonysággal és nagy hibaszázalékkal képes a hibával szemben nukleotidot beépíteni. Ezért minden sejtben kialakultak olyan javító mechanizmusok, amelyek lehetővé teszik a hiba áthidalását és a replikáció folytatását a hiba kijavítása nélkül is. Az egyik ilyen mechanizmus a transzléziós DNS szintézis, amely speciális transzléziós DNS polimerázokat használ a hiba áthidalásához. Számos transzléziós DNS polimeráz ismert humán sejtekben, ezek a Pol η , Pol ι , Pol κ , Pol ζ és a REV1. Ezekben a transzléziós polimerázokban ubiquitin kötő doméneket azonosítottak. A transzléziós DNS szintézisben központi szerepet játszik a PCNA fehérje, amelynek a 164-es pozícióban lévő lizin aminosaván történő monoubiquitilációja, a jelenlegi modell szerint elősegíti, hogy a replikatív DNS polimerázok helyet cseréljenek a transzléziós DNS polimerázokkal, így lehetővé teszi a DNS hiba áthidalását és a replikáció folytatását. Azonban a transzléziós DNS szintézis szabályozásának finom mechanizmusa még nem ismert, ahogy az sem, mi szabályozza, hogy melyik transzléziós polimeráz végzi a transzléziós DNS szintézist.

Ennek vizsgálatára a következő kérdések megválaszolását tűztük ki célul: 1. Mi a monoubiquitin-PCNA szerepe a transzléziós DNS szintézisben? 2. Mi a transzléziós polimerázok ubiquitin kötő doménjeinek szerepe? 3. Mi a transzléziós polimerázok ubiquitilálásának szerepe?

Kísérleteinkhez szükséges fehérjéket kitisztítottuk. Kimutattuk, hogy a PCNA monoubiquitilációja nem szükséges ahhoz, hogy a transzléziós polimerázok a replikációs fókuszba lokalizálódjanak. Bebizonyítottuk, hogy a monoubiquitilált PCNA nem stimulálja jobban a transzléziós polimerázok aktivitását, mint a módosítatlan PCNA. Meghatároztuk, hogy a monoubiquitilált PCNA transzléziós polimeráz kölcsönhatásban az ubiquitin kötő domén nem képes helyettesíteni a PCNA kötő motívumot. Kimutattuk, hogy a polimerázok ubiquitilálása *in vitro* a Rad6 fehérjétől függ és az ubiquitiláció nincs hatással a transzléziós DNS polimerázok katalitikus aktivitására.

Eredményeink mélyebb betekintést engednek a transzléziós DNS szintézis szabályozásába, ezen keresztül pedig a mutációk és így a rák kialakulásának megismeréséhez.

BioKém_2

Az ABCC6 fehérje R1339C és R1357W PXE-t okozó mutánsainak vizsgálata

Huszár Krisztina

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Fülöp Krisztina, Dr. Váradi András, Dr. Vellai Tibor

A humán ABCC6 fehérje az ABC fehérjék családjába tartozó organikus anion transzporter. Fiziológias szubsztátja nem ismert, elsősorban a májban és a vesében a sejtek bazolaterális membránjában található. Az ABCC6 gén mutációi egy ritka, örökletes kötőszöveti betegség, a pseudoxanthoma elasticum (PXE) kialakulásához vezetnek.

Munkám során két PXE-t okozó misszensz mutáns (R1339C és R1357W) vizsgálatát tűztem ki célul. Ugyanezen pozíciókat érintő változások más ABC (ABCC7, ABCC8) fehérjék esetén szintén örökletes betegségek kialakulásához vezetnek. PCR mutagenézis technikával elkészítettem, és Sf9 rovarsejtekben expresszáltam az R1339C és R1357W variánsokat. A fehérjék expresszióját immunoblot segítségével detektáltam. Az R1339C mutáns esetén a fehérje proteázokkal szembeni fokozott érzékenységét tapasztaltam, ami a mutáció következtében fellazult térszerkezeti struktúrára utal. Az R1357W variáns alacsony expressziója miatt nem volt alkalmas transzport vizsgálatra.

A mutánsok expressziójának és sejten belüli lokalizációjának tanulmányozását emlős sejtekben (HEK-293H és COS-7) végeztem. A misszensz mutációt hordozó cDNS konstrukciókat emlős expressziós vektorba szubklónoztam, majd a sejtek tranziens transzfekcióját végeztem. A rekombináns fehérjék sejten belüli lokalizációját fluoreszcens immuncitokémiai festés és konfokális lézer pásztázó mikroszkópia segítségével mutattam ki. Mindkét mutáns mind HEK-293H mind COS-7 sejtekben expresszáltam. A COS-7 sejtvonalon esetén kaptam értékelhető eredményt: mindkét mutáns expresszáldott, de- szemben a vad típusal, ami a várákosoknak megfelelően a plazmamembránban lokalizálódott- a mutánsok intracelluláris felhalmozódást mutáltak. Valószínű, hogy a mutáció következtében sérült az ABCC6 variánsok foldingja, és valamelyik intracelluláris kompartmentben megrekedtek a trafficking során. (A mutáns fehérjék pontos lokalizációjának megállapításához stabil, polarizáltan növesztett MDCKII sejt kultúrán szeretnék kísérletet végezni. Az ehhez szükséges R1339C és R1357W mutáns konstrukciókat elkészítettem, és retrovirális expressziós vektorba szubklónoztam.)

Előzetes eredményeim azt sugallják, hogy PXE-s betegekben az R1339C és R1357W variánsok sérült foldingjuk illetve gyors eliminációjuk következtében nem expresszáldnak megfelelő mennyiségben a sejt felszínén, így nem tudják betölteni fiziológias funkciójukat, ami a betegség tüneteinek kialakulásához vezethet.

BioKém_2

A Nur77 transzkripciós faktor szerepe a retinsavak által kiváltott apoptózisban egér tímuszsejteken

Kiss Beáta

Debreceni Egyetem, Molekuláris biológus szak

Témavezetők: Dr. Szondy Zsuzsa, Tóth Katalin Ágnes

A természetes retinsavak (9-cisz- és all-transz-retinsav) az A-vitamin aktív metabolitjai, melyek a sejtmagi receptorok családjába tartozó retinoid receptorokon keresztül gének átíródását szabályozzák. Az intézetben folyó korábbi kutatómunka kimutatta, hogy a retinsavak az RAR γ receptoron keresztül sejthalált váltanak ki egér tímuszsejteken. Perifériás T-sejteken és T-sejt hibridómákon pedig az RAR γ ligálása fokozta a Nur77 transzkripciós faktor kifejeződését.

A Nur77 a DNS-kötő domén szekvencia homológia alapján a szteroid/tireoid/retinoid sejtmag receptor szupercsaládba tartozó transzkripciós faktor, melynek ligandja ismeretlen. A Nur77 transzkripciós faktorról ismert, hogy kulcsszerepet tölt be a timociták negatív szelekciós elhalása során, szelektív túltermelése egér tímuszsejteken pedig különféle sejthalál gének indukcióján keresztül apoptózist vált ki.

Jelen kísérleteinkben azt vizsgáltuk, hogy retinsavak hatására egér timocitákban is fokozódik-e a Nur77 expressziója, és ha igen, ez befolyásolja-e az éretlen tímuszsejtek apoptózisát. Azt tapasztaltuk, hogy vad típusú egérből származó tímuszsejteknél a sejthalált kiváltó retinsavak fokozzák a Nur77 kifejeződését. A Nur77 gént nem tartalmazó, knock out egérből származó timociták esetében retinsav adására nem figyelhető meg emelkedett mértékű sejtpusztulás. Kvantitatív PCR technikával meghatároztuk, hogy a retinoidok fokozzák több, a sejthalál kiváltásában szerepet játszó gén kifejeződését.

Adataink arra utalnak, hogy a retinsavak a Nur77 transzkripciós faktoron keresztül hatva váltják ki a tímuszsejtek apoptózisát, mely folyamatban meghatározó szerepe van a Nur77-függő sejthalál géneknek.

BioKém_2

Kémiai, és sejtalapú módszerek adaptációja HTS (high throughput screening) rendszerbe: citoprotektív és antioxidáns hatású vegyületek szűrése

Lakatos Petra
Debreceni Egyetem, Molekuláris biológus szak

Témavezető: Dr. Virág László

A modern gyógyszerkutatás alapja a gyógyszerjelölt molekulák azonosítása nagy áteresztő képességű, ún. high-throughput módszerekkel. Ennek a tipikusan gyógyszergyári környezetben működő technológiának egyetemi környezetben is van létjogosultsága, mivel a gyógyszergyárak csupán egy szűk targetspektrumra fókuszálnak, az egyetemi HTS viszont az akadémiai szféra alapkutatásaihoz kapcsolódva alkalmas kutatási célú gátlószerek illetve kisebb betegcsoportok gyógyszerfejlesztési szempontból is ígéretes molekuláinak azonosítására.

Vizsgálatainkban kémiai, biokémiai és sejtes alapú módszerek beállításával indítottuk útjára a Debreceni Egyetem HTS laboratóriumát.

Kísérleteinket Tecan Freedom EVO folyadékkezelő robottal állítottuk össze, 96 -, illetve 384 lyukú mikroplate-ekben. A folyadékok bemérését 8 csatornás pipettázófejjel végeztük. Molekulakönyvtárunk vegyületeit az ún. „pin tool” egységgel mértük át az assay plate-ekre n-es nagyságrendű térfogatban. Eredményeink detektálásához Perkin-Elmer Victor3 V mikrotiterlemez-olvasót használtunk, mely fotometriás, fluorimetriás, valamint luminometriás mérésekre is alkalmas.

Vizsgálatainkhoz a Debreceni Egyetem jelenleg 2000 molekulát tartalmazó molekulabankjának (<http://ret.chem.klte.hu/ret>) vegyületeit használtuk. Egyszerű kémiai reakcióval (ABTS dekolizációs assay) 89 antioxidáns hatású vegyületet azonosítottunk a molekulabankban. Jurkat humán T-sejt vonalon 46 hidrogén-peroxiddal szemben citoprotektív vegyületet azonosítottunk reszazurin redukción alapuló eljárással.

Elvégeztük a „hit” vegyületek hagyományos módszerrel történő ellenőrzését, melyekkel sikerült megerősítenünk a HTS módszerrel kapott eredményeinket. A citoprotektív hatásának bizonyult vegyületek egy része antioxidáns tulajdonságokkal is rendelkezik. Az ettől eltérő hatásmechanizmus vizsgálata folyamatban van.

Támogatás: RET 06/2004, OTKA K60780, ETT 257/2006, Baross EA-HR-06-ELODI-01

BioKém_2

A rezveratrol és a SZV1361 rezveratrol analóg hatása az LPS-indukálta gyulladási folyamatokra egér RAW 264.7 sejtvonalon

*Pribér János Krisztián
Pécsi Tudományegyetem, Biológus szak*

Témavezetők: Dr. Veres Balázs, Dr. Kerepesi Ildikó @

Az LPS, lipopoliszacharid, a Gram-negatív baktériumok sejtalkomponense. Endotoxin, amely a fertőzést során szabadul fel, és kapcsolódik a véráramban az LPS kötő fehérjéhez. A komplex az extracelluláris mátrix felé tekintő sejt felszíni receptorok csoportjához kapcsolódik (CD14, TLR4, MD2). Megindul egy jelátviteli folyamat, amiben fontos szerepet játszik az NF- κ B transzkripciós faktor. Az NF- κ B az aktivációját követően a sejt magba jut, ahol kiváltja indukálható gének (iNOS, COX2), a pro-inflammatórikus citokinek (IL-1, IL-6, TNF- α) és az anti-inflammatórikus citokinek (IL-10, IL-13) expresszióját. A pro-inflammatórikus citokinek a gyulladás kialakításában, míg az anti-inflammatórikus citokinek a gyulladás megszüntetésében játszanak szerepet. A gyulladás során fellépő oxidatív stresszben fontos a NO, a reaktív oxigén gyökök (ROS) hatása. A COX1 és COX2 enzim a prosztaglandinokat termel, mint a PG2, amely szintén a gyulladás kialakításában vesz részt. Az iNOS enzim termeli az NO-t.

Szepszisről, vérmérgezésről akkor beszélünk, ha a kórokozó bejut a véráramba és a egész szervezetre kiterjedő gyulladást okoz. Szepszis kialakulásának oka az infekció, melyért a gramm-negatív és gramm pozitív baktériumok, *Candida* speciesek tehetőek felelőssé. A szepszis korai fázisa a septicus sokk, melynek mortalitása kisebb, mint a későbbi fázisnak, a súlyos szepszisnek. Az intenzív osztályokon bekövetkező halálos esetek második leggyakoribb oka a szepszis. Európában évente 135.000 ember hal meg szepszisben az intenzív osztályokon. A súlyos szepszis mortalitása adekvát terápia esetén is 30-50 százalék!

A polifenolokat már régóta használják a gyógyászatban, gyulladási folyamatoknál, oxidatív stressz esetén. A polifenolok közé tartozó rezveratrol természetes antibiotikum, ami megtalálható a zöld és fekete teában, földimogyoróban, szőlőben és vörösbortban. Gátolja a foszfolipáz A2-öt és a ciklooxygenázokat (COX1, COX2), melyek együtt a prosztaglandinok termelésében játszanak szerepet. Antioxidáns és anti-inflammatórikus. Egyes cikkek szerint, és a mi eddigi vizsgálataink alapján is gátolja az NF- κ B transzkripciós faktort. Vannak azonban ezzel ellentmondó vélemények, eredmények ugyanezen a másodlagos sejtvonalon.

A rezveratrol koncentrációjától függően gátolja LPS stimulus hatására megnövekedett COX2 és az iNOS aktivitását. Így a NO, PG2 és a ROS szintjét is csökkenti. Rezveratrol csökkentette az LPS hatására megnövekedett IL-6, TNF- α szintet is.

Az SZV1361, szintetikus rezveratrol analóg, hatását még nem ismerjük. A vizsgálatokból kiderült, hogy a NO, nitrit szintjére való hatása a rezveratroléval megegyezett, míg a IL-6 esetében csak kismértékű eltérést tapasztalhattunk. A ROS és a TNF- α esetében a hatása alul maradt.

BioKém_2

**Na⁺/H⁺ cserélők aktivitásának vizsgálata gyulladásos
bélbetegségekben**

Schnúr Andrea

Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Legány Nóra

Szegedi Tudományegyetem, Általános orvos szak

Témavezetők: Dr. Hegyi Péter, Dr. Farkas Klaudia, Dr. Ifj. Rakonczay Zoltán, Dr. Varga Csaba

A normál és gyulladásos humán vastagbél Na⁺/H⁺ cserélőinek (NHE) aktivitásáról kevés irodalmi adat áll a rendelkezésünkre. A NHE gátló amilorid ugyanakkor a gyulladásos bélbetegség (IBD) egér dextrán-szulfát modelljében csökkentette a gyulladás súlyosságát, ezért az NHE-k működésének pontos megismerése új terápiás célpontot jelenthet.

Kísérleteinkben célul tűztük ki vastagbéltükrözés során normálisnak bizonyuló, valamint Crohn (CD) és colitis ulcerosás (CU) betegekből származó biopsziás mintákból izolált humán colon epitél sejtek NHE1-3 izoforma aktivitásának vizsgálatát a vastagbél különböző szakaszain, illetve a kripták különböző részeiben.

Az I. sz. Belgyógyászati Klinikán diagnosztikus vastagbéltükrözés céljából megjelenő és IBD-ben szenvedő betegek vastagbélből, etikai engedély és a betegek írásos beleegyezésének birtokában, szövetmintát vettünk. A mintákból enzimatisz emésztést követően kriptákat izoláltunk. A sejtek pH függő fluoreszcens festékkel (BCECF-AM) történő feltöltése után mikrofluorimetriás módszerrel mértük az intracelluláris pH (pH_i) változást az idő függvényében. A pH_i változásából következtettünk a NHE-k aktivitására. A különböző NHE izoformákat HOE-642-vel szelektíven gátoztuk.

Egészséges személyek vastagbélből izolált kripták felszínén dominálón NHE3, bázisikon NHE2 aktivitást tapasztaltunk. A vastagbél proximális szakaszától disztál felé haladva mindhárom NHE aktivitásának csökkenése volt megfigyelhető. CD-ben a proximális colonban a NHE1-3 izoforma szignifikánsan alacsonyabb működését igazoltuk, ezek a defektusok a CD rectumból nyert mintákból izolált kriptákban nem voltak megfigyelhetőek.

CU aktív szakában jelentős NHE1 aktivitásfokozódást és szignifikáns NHE3 aktivitáscsökkenést észleltünk, mely változások inaktív betegségben ugyancsak megtalálhatóak voltak.

CD-s és CU-s betegeknél az NHE izoformák aktivitása megváltozik. Az NHE-k IBD-ben betöltött szerepe további vizsgálatokat igényel.

BioKém_2

Egy proteáz-inhibitor fehérje irányított evolúciója

Zboray Katalin

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Pál Gábor

Szervezetünk számos folyamatában szerepelnek proteázok. Fontos szerepük van az emésztésben, a vérárvadásban, a vérrögök oldásában, immunfolyamatokban.

A proteázokat szabályozni kell. Ennek egyik módja a fehérje-inhibitorokkal történő gátlás. Az inhibitorok egyik típusa szubsztrátszerűen kötődik a proteázhoz, de nem bomlik le, csak egyetlen peptidkötése hasad el. A proteáz mind a hasítatlan, mind a hasított formával stabil komplexet alkot. Az inhibitornak egy merev hurkon lévő kb. 6 aminosavnyi szakasza lép kölcsönhatásba az enzimmel.

Munkám során létrehoztam egy inhibitorfehérje 6-tagú proteázkötő szakaszának összes lehetséges, tehát 64 millió variánsát. Egy irányított evolúciós eljárás, a fág-bemutató keretében a variánsokat M13 bakteriofág felszínén jelenítettem meg. Az eljárásban a fehérjevariáns és annak génje a fágon keresztül fizikailag kapcsolódik. Az inhibitor-fág könyvtárát különböző proteázokon szelektáltam, a gátolni képes formákat felszaporítottam.

Nagyszámú klón génjének szekvencia analízisével meghatároztam az egyes proteázok jellemző szubsztrát-specifitási mintázatát, ami önmagában is alapvető eredmény. Ezen felül szelektív inhibitorokkal célzottan avatkozhatunk be összetett biológiai folyamatokba, és ezek kiindulópontul szolgálhatnak gyógyszermolekulák tervezéséhez is.

A dolgozatban megvitatásra kerül az az ezidáig elfogadott nézet, miszerint egy optimális szubsztrátszerű inhibitor szekvenciája megfelel az optimális szubsztrát szekvenciájának, ezért jó kiindulópont lehet a természetes szubsztrát fehérjék genomai adatbázisokban történő azonosításához.

Biotechnológia tagozat

Időpont: Április 9. 09:00

Terem: M épület, 3. terem

A zsűri elnöke: **Prof. Maráz Anna**, tanszékvezető egyetemi tanár
Budapesti Corvinus Egyetem, Mikrobiológia és
Biotechnológia Tanszék

tagjai: **Bélafiné Dr. Bakó Katalin**, tudományos főmunkatárs
Pannon Egyetem, Műszaki Kémiai Kutató Intézetet

Dr. Fleit Ernő, egyetemi docens
Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Víz
Közmű és Környezetmérnöki Tanszék

09:00	Csanádi Eszter	SZTE TTIK	Klórozott aromás vegyületekkel szennyezett Garéi talaj bioremediációja
09:20	Horváth Tamás	PE MK	Tavak tisztítására kifejlesztett baktérium szuszpenzió hatékonyságának vizsgálata egy kerti dísztagon
09:40	Laczi Krisztián	SZTE TTIK	A különböző domén összetételű <i>Aspergillus niger</i> glükóamilázok katalitikus jellemzése
10:00	Lakatos Gergely	SZTE TTIK	A HynSL stabil hidrogenáz enzim affinitás kromatográfiás tisztítása <i>Thiocapsa roseopersicina</i> -ból
10:20	Lay Kitti	DE TTK	Az utótisztító tavi rendszer vízminőségi vizsgálata a Gyulai Szennyvíztisztító Telepen
10:40	Szünet		
10:50	Orsovai Ágnes	ELTE TTK	Ipari szennyvíz tisztításának hatásfoknövelése hozzáadott liofilizált baktériumkultúrával laboratóriumi modellrendszerben
11:10	Szász Katalin	SZTE TTIK	Monoklórbenzol és 1,2-Diklóretán biológiai ártalmatlanítása talajvízből
11:30	Szigeti Márton Géza	PE MK	Biomassza emészthetőségének javítása termikus előkezeléssel
11:50	Szilágyi Gergely	SZTE TTIK	Foszfát mobilizálása húslisztből

BioTech

**Klórozott aromás vegyületekkel szennyezett Garéi talaj
bioremediációja**

Csanádi Eszter

Szegedi Tudományegyetem, Környezettudományi szak

Témavezetők: Dr. Rákhelyné Dr. Perei Katalin, Dr. Kovács L. Kornél

A Budapesti Vegyi Művek a nyolcvanas években Garé falu határában ideiglenes tárolót alakított ki, ahová több ezer klórozott aromás vegyületet tartalmazó hordót szállított. A nem szakszerű tárolás miatt a hordók tartalma a talajba szivárgott.

A fizikai-kémiai módszerek segítségével elvégzett remediálás nem volt tökéletes és gazdaságos, ezért más, olcsó és hatékony módszert kellett alkalmazni a teljes rehabilitációhoz.

Kutatásom célja ezen szennyezett talajmintákban egyéb aromás vegyületekkel együtt megtalálható penta-klórbenzol biológiai bontása, illetve átalakítása a környezetre kevésbé toxikus intermedierré. A közepes mértékben szennyezett talaj ($3\text{-}5000\text{ mg kg}^{-1}$) tisztítását biológiai úton, aromás vegyületek bontására szelektált mikroorganizmusok segítségével (*Pseudomonas putida*, *P. marginalis*, *P. stutzeri*, *P. aurantiaca*) végeztem.

A szennyezett talajminták legnagyobb mennyiségben tetra- és penta-klórbenzolt tartalmaztak, melyek közül a penta-klórbenzol biodegradációjának vizsgálata volt a feladatom. Az adaptációs kísérletekben, majd a bontási folyamatok modellezésében e vegyületet hexán oldószerben oldva használtuk. A vegyület bontása során klorid ionok szabadulnak fel, melyek mennyiségi változását (a tápoldatban) klorid ion mérésre kialakított tesztekkel követtünk nyomon. A penta-klórbenzol mennyiségének változását pedig gázkromatográffal összekötött tömeg-spektrométer (GC-MS) segítségével detektáltuk.

BioTech

**Tavak tisztítására kifejlesztett baktérium szuszpenzió
hatékonyságának vizsgálata egy kerti dísztagon**

Horváth Tamás
Pannon Egyetem, Biomérnök BSc szak

Témavezető: Dr. Padisák Judit

Külföldön elterjedt és hazánkban is egyre jobban teret hódító kertdíszítési forma a kerti tavak létesítése. Általános tapasztalat, hogy a tavacsák sokszor a jó szándékú, de helytelen kezelés (halakkal való túltelepítés, etetés) miatt rövid idő alatt hipertrófiá válnak, sokszor kellemetlen kísérőjelenségekkel (algavirágzás, halpusztulás, szélsőséges esetben anaeróbia kialakulása). E helyzet kezelésére több megoldást kidolgoztak, melyek egyike az EM-Farming Pond™ nevű készítmény, mely egy baktérium szuszpenzió, s a gyártó (pontosan nem közölt) várakozása szerint a tavacsák felborult anyagforgalmát hivatott helyreállítani.

2008. szeptember 2-26. között egy 25 m²-es, 8 éve létesített, „beállt” kerti tavn teszteltük a szer hatékonyságát. A kezelés kezdete előtt, majd azt követően egyenlő időközökben 3 alkalommal mértük a víz oxigéntartalmát, vezetőképességét, pH-ját, és mintákat vettünk a főbb vízkémiai paraméterek meghatározására, fitoplankton és bevonat analízisre. Az átlátszóságot naponta mértük Secchi korong segítségével.

A kezelés kezdete előtt a tó hipertróf állapotában is esztétikailag rendezett állapotban volt. A kezelést követően átlátszósága rohamosan csökkent, s csak a vizsgálati időszak végére állt vissza az eredeti értékre. Az átlátszóság csökkenésének oka, hogy a kezelést követően a domináns *Ankistrodesmus falcatus* (Chlorococcales) kötegei szétestek, ezáltal a fényextinkció megnőtt.

A vizsgálati eredmények tükrében megállapítottuk, hogy a tisztázatlan hatásmechanizmusú szer alkalmazása fő rendszerparaméterek ismerete nélkül nem javasolható, sőt az alkalmazás után olyan jelenségek léphetnek fel, mely az eredeti állapot romlásához is vezethet.

BioTech

**A különböző domén összetételű *Aspergillus niger* glükóamilázok
katalitikus jellemzése**

Laczi Krisztián
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Kovács L. Kornél, Dr. Rákhely Gábor

Az élővilágban igen elterjedt, a baktériumoktól a gombákon át az emlősökig mindenhol megtalálható glükóamilázok a-1,4 glükózidos kötés bontó aktivitással rendelkező enzimek, így β -D-glükóz egységeket szabadítanak fel különböző oligo- és poliszacharidok, mint például a keményítő, nem redukáló végéről. A fonalas gombák glükóamilázai multidomén szerkezetű fehérjék, egy az enzim aktív centrumát tartalmazó katalitikus-, egy erősen O-glikozilált linker-, és egy a vízben nem oldott szubsztátok megkötésében szerepet játszó keményítő kötő doménből épülnek fel. A fonalas gombák glükóamilázait az iparban glükóz és fruktóz szirupok készítésében használják fel.

Kísérleteim célja a *Pichia pastoris* élesztő expressziós rendszerben termeltetett különböző doménösszetétellel rendelkező *Aspergillus niger* glükóamiláz enzimvariánsok tulajdonságainak vizsgálata.

Az *A. niger* vad típusú glükóamiláz, valamint a katalitikus és linker doménből, illetve a csak katalitikus doménből felépülő enzimvariánsok *P. pastoris*-ban való termeléshez optimalizált szekvenciájú génjeinek előállítása génszintézissel, illetve PCR-ekkel történt. A gének a kifejeződésüket biztosító expressziós vektorba, az 5' végükhöz fuzionáltatott *Saccharomyces cerevisiae* a-faktor szekréción szignált kódoló szekvenciával együtt, egy folyamatos működésű GAP promotor mögé lettek építve. Az elkészített vektorok *P. pastoris*-ba elektroporálással lettek bejuttatva. Az antibiotikum jelenlétében szelektált transzformáns sejtek aktív fehérje termelő képességét keményítő tartalmú táplemezeken való további növesztéssel ellenőriztem. A legjobb fehérjetermelő sejtvonalak további növesztése folyadék kultúrában történt. A sejtek citoplazmájának és a kultúrák felülúszójának fehérje mintázatát SDS-PAGE módszerrel vizsgáltam. A *P. pastoris* kultúrák felülúszóinak keményítóbontó aktivitását 3, 5-dinitroszalicilsavas redukáló cukormérésen keresztül határoztam meg.

A vad típusú enzim és a linker doménnel rendelkező variáns expressziója a *P. pastoris* rendszerben sikeres volt. A katalitikus domén génjét tartalmazó sejtek nem expresszálták a fehérjét. A vad típusú és a linker domént tartalmazó enzimvariánsok hőstabilitása, valamint vízoldható keményítő szubsztátumon mutatott aktivitásuk hőmérséklet és pH optimuma meg lett határozva. Az aktivitás hőmérséklet és pH optimuma ugyanarra a tartományra esett mindkét variáns esetében, és hőstabilitásukban sem különböztek. Kimutattam, hogy a vad típusú enzim magasabb specifikus aktivitással rendelkezik vízoldható keményítón, mint a linkert tartalmazó változat, ami összhangban van a keményítő kötő doménnek az enzim működésében betöltött szerepére vonatkozó korábbi feltételezésekkel.

BioTech

A HynSL stabil hidrogenáz enzim affinitás kromatográfiás tisztítása *Thiocapsa roseopersicina*-ból

Lakatos Gergely
Szegedi Tudományegyetem, Biológia szak

Témavezetők: Dr. Kovács Kornél, Dr. Rákhely Gábor, Dr. Maróti Gergely

Modellorganizmusunk a *Thiocapsa roseopersicina* egy anaerob fototróf bíbor kénbaktérium, amely a fotoszintézis során az elektronokat nem vízbontásból, hanem kénvegyületek oxidációjával nyeri. A baktérium energiaháztartásának fontos elemei a hidrogenáz enzimek. Három eddig jellemzett - [Ni-Fe] típusú - hidrogenáz enzim működik a törzsben, kettő membrán-kötött (HynSL, HupSL) egy a citoplazmában lokalizált (HoxYH).

Munkám témája a HynSL heterodimer hidrogenáz enzim pontos karakterizálása. Ismert, hogy a HynL nagy alegységében található az enzim aktív centrumát alkotó [NiFe] fémkomplex, a HynS kis alegységen pedig a három [FeS] kocka van, amelyek az elektronok szállításáért felelősek. Az enzim különleges stabilitási tulajdonságokkal bír, ezek a tulajdonságok azonban nem teljesen tisztázottak. Hosszú távú célom a HynSL enzim szerkezete és biokémiai-biofizikai tulajdonságai közötti összefüggések feltárása. Ennek megfelelően dolgozatomban témája, hogy az enzimet homogén formában tisztítsam, így lehetővé válnak azok a biofizikai és biokémiai mérések, melyek alapján a HynSL enzim igéretes stabilitási tulajdonságai pontosan leírhatóak, és így más enzimekkel összehasonlíthatóvá válik.

Korábbi kísérletek hagyományos fehérjekromatográfiás módszerekkel gyenge kitermeléssel működtek, a speciális, tisztítás során könnyen alegységeire bomló enzimet nem lehetett a kívánt mennyiségben és tisztaságban izolálni. Ezért alternatív lehetőségként affinitás kromatográfia mellett döntöttünk, mellyel a sejtben kis mennyiségben jelenlévő fehérjéket is hatékonyan lehet tisztítani. A konstrukció megtervezése során számos szempont figyelembevételére után a hidrogenáz kis alegységének belső régiójára terveztük a StrepII fúziós peptidet, ez a régió a homológia modellek alapján egy - a fehérje felszínén elhelyezkedő - semleges aminosav szakaszt reprezentál.

A fúziós fehérje (HynS-Strep) tisztítása homológ gazdából sikeres volt, az elúciós frakciókban a kis alegység mellett a nagy alegységet is detektáltuk. Aktivitás mérésekkel bizonyítottuk, hogy a HynSL enzim aktív formában tisztítható ezzel a módszerrel, mely arra utal, hogy a hidrogenáz bioszintézis zavartalanul végbemegy, és izolálási folyamatunk során az enzimkomplex egyben marad.

BioTech

Az utótisztító tavi rendszer vízminőségi vizsgálata a Gyulai Szennyvíztisztító Telepen

Lay Kitti

Debreceni Egyetem, Környezettudomány szak

Témavezető: Dr. Lakatos Gyula

A dolgozatomban vizsgálati objektumként a Gyulai Szennyvíztisztító Telepet választottam, azon belül az eleveniszapos tisztítási rendszerhez tartozó, utótisztítóként funkcionáló tavi rendszert, amely eredetileg a korábban működő nyárfás szennyvíztisztítási folyamathoz tartozott. Fontos e tavi rendszer ökológiai állapotának monitorozása, illetve annak a kérdésnek a megválaszolása, hogy érdemes-e változtatásokat bevezetni a rendszer hatékonyságának növelése érdekében. Kutatásaim során vízkémiai és bakteriológiai vizsgálatok eredményeinek elemzésével próbáltam igazolni ezen célkitűzéseimet.

A kapott eredményeimből megállapítottam, hogy a vízminőség kedvezőtlen irányba változik, mivel a tisztított szennyvízhez hozzáadódik a tavi rendszerben már eleve benne lévő szerves anyag mennyiség is. Viszont kedvező, hogy bakteriológiai szempontból folyamatos pozitív változás figyelhető meg.

Véleményem szerint azonban szükség lenne e tavi rendszer egységeinek további folyamatos monitorozására, mivel a külső terhelés mellett a tavi rendszer belső szervesanyag-terhelése is fontos szerepet játszik.

További kutatási terveim közé tartozik, hogy megvizsgáljam, milyen lehetőségek állnak rendelkezésemre a tisztítási hatékonyság növelésére a belső terhelési tényezők kiküszöbölésével, amit például a víz áramlási sebességének csökkentésével érhetünk el. Ez ugyanis az ülepedési idő növekedését vonná maga után. Amennyiben a tárgyalt technológiai módosítás alkalmazhatónak és hatékornak bizonyul, úgy újabb kérdésként merül fel, hogy mindezt hogyan valósíthatom meg a Gyulai Szennyvíztisztító Telep esetében.

BioTech

Ipari szennyvíz tisztításának hatásfoknövelése hozzáadott liofilizált baktériumkultúrával laboratóriumi modellrendszerben

Orsovai Ágnes

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Környezettudomány szak

Témavezetők: Dr. Barkács Katalin, Gorál Róbert

Munkám ipari technológiai vízkezelési témakörben végeztem. Kísérleteim során azt vizsgáltam, hogy az időszakosan rosszul tisztító eleveniszap működése javítható-e liofilizált baktériumkultúra alkalmazásával.

A vizsgálatban a szennyezőanyag terhelés mellett teljesítményrontó tényező a téli hideg is. Statikus és dinamikus körülmények közt egyaránt mértem a liofilizált kultúra bontási képességeit két paraméter, a fenol-index és rodanidion koncentrációjának változása alapján.

A statikus kísérlet során bebizonyosodott, hogy a kiválasztott baktériumkultúra megfelelően bontja a fent említett vegyületeket.

A dinamikus kísérletet laboratóriumi méretű modellrendszerben végeztem. Vízkémiai vizsgálatok, biológiai ujjenyomat-módszerek alkalmazásával figyeltem a liofilizált baktériumok adagolása által okozott változásokat.

Az eredmények azt mutatják, hogy a kultúra adagolása a fenol-index jelentős csökkenését okozta, de a rodanidion mennyisége a liofilizált kultúra – adagoktól teljesen függetlenül változott, e szennyező komponens eltávolítására a készítmény használata nem volt kedvező hatással.

BioTech

**Monoklórbenzol és 1,2-Diklóretán biológiai ártalmatlanítása
talajvízből**

Szász Katalin

Szegedi Tudományegyetem, Környezettudomány szak

Témavezetők: Dr. Rákhelyné Dr. Perei Katalin, Dr. Kovács Kornél

Munkám során célul tűztem ki két igen ártalmas szerves vegyület a monoklórbenzol és diklóretán ártalmatlanítását talajvízből, melyet egy volt orosz laktanya területén találtak. A kármentesítést teljesen biológiai úton szeretném elérni, hogy a lehető legkevésbé bolygassam meg a terület természetességét, és ne vigyek be idegen vegyszereket a talaj rendszerébe.

A kísérleteim során kiválasztottam három baktériumot: *Pseudomonas stutzeri*-t, *Rhodococcus erythopolis*-t és *Pseudomonas aurantiaca*-t, melyek halogénezett szénhidrogén bontása bizonyított. A baktériumok szaporításához és a biodegradációhoz szükséges tápoldat összetételt optimalizáltam, különböző anyagok, különböző koncentrációjában, és a változást totál szerves szén és klorid-ion mérésével, valamint gázkromatográfias mérésekkel (a célvegyület jelenlétének ellenőrzésére) követtem nyomon.

Az eredmények azt bizonyítják, hogy a baktériumok ezekkel az igen káros anyagokkal szemben is ellenállóak, és a szerkezetük felépítéséhez szükséges elemeket a vegyületek lebontása során szerzik meg.

BioTech

Biomassza emészthetőségének javítása termikus előkezeléssel

Szigeti Márton Géza
Pannon Egyetem, Biomérnök BSc szak

Témavezető: Dr. Dallos András

A bioetanol-gyártás technológiája energiaigényes: a darálók, az elfolyósítók, a desztillálók, a víztelenítők hő és mechanikai energia szükségletének legfontosabb energiaforrásai jelenleg a földgáz és az elektromos energia. Lehetőség van azonban az energia-költségek jelentős csökkentésére a melléktermékek hőenergia célú felhasználása, biogáz előállítás révén. A bioüzemlánc részét képező, elektromos áram termelésre alkalmas gázturbinás égetőmű segítségével a biogázt segéd-energiaforrásként (hő és elektromos energia) felhasználhatják. A bioetanol-gyártás energiaszükségletének csökkentésével csökken az üzem CO₂-kibocsátása, ami a légköri széndioxid-növekedés mérséklésének csökkentését eredményezheti.

A biomassza alapú biogáz gyártó üzem hatásfoka jelentősen nőhet a fermentáció és a gázképződés technológiájának fejlesztésével, a nyersanyagok emészthetőségének javításával. Az erjesztendő töltet hulladék-hővel történő termikus előkezelése roncsolja a növényi rostokat, a javítja a biopolimerek hozzáférhetőségét és feltárását, a szerves anyagok emészthetőségét, és ezzel elősegíti a lebontó mikrobák tevékenységét.

Kísérleti munkám során a kukorica alapú bioetanol gyártás nyersanyagának előkészítése során keletkező melléktermékek, kukorica-csíra, kukorica-korpa és kukorica-siló termikus kezelésével foglalkoztam. A vizsgálatokat 5%(m/m) szárazanyag-tartalmú biomassza-víz keverékek felhasználásával, 100-150 °C hőmérsékleten végeztem egy 2 literes nagynyomású Parr reaktorban.

A termikus roncsolás eredményességét a biomassza-víz keverékek vizes fázisa kémiai oxigénigény-változásának (KOI) mérésével követtem. Megvizsgáltam a kezelési hőmérséklet és idő KOI értékre gyakorolt hatását és megállapítottam az optimális műveleti paramétereket az egyes növényi származékok esetén.

BioTech

Foszfát mobilizálása húslisztből

Szilágyi Gergely

Szegedi Tudományegyetem, Környezettudomány szak

Témavezetők: Dr. Rákhelyné Dr. Perei Katalin, Dr. Kovács Kornél

Kutatásom folyamán elsősorban a mezőgazdaságban, túlzott mennyiségben használt műtrágyákat szeretném helyettesíteni alternatív megoldással.

Előzetes kutatások alátámasztják hogy a foszfát limitáló tényező a növények fejlődésének szempontjából. Ezt próbálják pótolni a műtrágyákkal, de a valós szükségletet nehéz meghatározni, így nem lehet pontosan szabályozni, általában túltrágyázás a jellemző. A húsliszt sok foszfátot, ezen belül kalcium-foszfátot tartalmaz, ami vízben oldhatatlan vegyület. Egy általunk szelektált baktérium ezt a kalcium-foszfátot vízben oldható orto-foszfáttá alakítja át, amit a növény már fel tud venni, és ebből fedezheti a szükséges foszfát mennyiségét, ennek alapján a húsliszt felhasználható a foszfát műtrágyák kiváltására.

A kísérleteim bizakodó eredményt mutatnak. Már számos kísérletet végeztem és a baktérium, amivel dolgozom (*Pseudomonas koreensis*), jól mérhető foszfát mennyiséget mobilizál. Ezt az eredményt spektrofotométer használatával tudom mérni standard módszerrel (vanadát-molibdát reagens segítségével 405 nm-en). A húslisztet, olyan tápfolyadékba adagolom, ami nem tartalmaz foszfátot, ezzel is serkentve a baktériumokat a foszfátnobilizálásra.

A kísérleteim során nem csak a keletkező ortofoszfát tartalmat mértem a tápoldatban, hanem a megjelenő Ca^{2+} -ionokat is. Ezzel azt bizonyítom, hogy az ortofoszfát kalcium-foszfátból származik.

Etológia tagozat

Időpont: Április 8. 15:00

Terem: N épület, Radiokémia előadó

A zsűri elnöke: **Dr. Kabai Péter**, egyetemi docens
Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar,
Ökológiai Tanszék

tagjai: **Dr. Barta Zoltán**, egyetemi docens
Debreceni Egyetem, Evolúciós Állattani és
Humánbiológiai Tanszék

Dr. Pongrácz Péter, egyetemi tanársegéd
Eötvös Loránd Tudományegyetem, Etológia Tanszék

15:00	Gergely Anna	SZIE ÁOTK	„Meglépetés effektus” kutyáknál „naív fizikai” tesztekben
15:20	Kis Anna	ELTE TTK	Menhelyi kutyák ember elleni agressziójának etológiai vizsgálata prediktív viselkedési tesztek kidolgozása céljából
15:40	Sümegei Zsófia	ELTE TTK	A-nem-B hiba vizsgálata kutyákon
16:00	Tulogdi Áron	SZIE ÁOTK	Korai szociális izoláció hatására kialakuló abnormális agresszió
16:20	Varga Zsófia	SZIE ÁOTK	Megfigyelt temperamentum jellemzők csecsemő- és kisgyermekkorban

Etol

„Meglepetés effektus” kutyáknál „naív fizikai” tesztekben

Gergely Anna
Szent István Egyetem, Biológia BSc szak

Témavezetők: Dr. Topál József, Erdőhegyi Ágnes, Dr. Kabai Péter

Az elvárások megsértésén alapuló paradigma széles körben alkalmazott módszer gyermekek kognitív képességeinek vizsgálatakor (pl. Baillargeon, 2004). Hogy megtudjuk, alkalmas-e ez a módszer kutyák fizikai kognitív képességeinek vizsgálatára, két tesztet dolgoztunk ki a paradigmának megfelelően.

A méretállandóság teszt során két csoportra osztottuk a kutyákat ($N_1=10$; $N_2=10$). A “teszt csoportban” a kutyák a habituációs próbák alatt egy damillal irányított, jutalomfalatot tartalmazó flakont láttak a start ponttól egy kartondobozon át a végpontig mozogni. 15 mp után a kísérletvezetőtől megkapták a flakontól a falatot (ezt 6-szor ismételtük). Ezt követte a tesztpróba, amely során a flakon eltűnt a dobozban, és egy kétszer akkora, amúgy identikus flakon jött elő a dobozból és állt meg a végponton. Ahhoz, hogy kizárhassuk az újdonság hatását, létrehoztunk egy “kontroll csoportot”, amely a habituációs próbák során láthatta a kis flakont eltűnni a dobozban, majd a kétszer akkora, identikus flakont előtűnni és megállni a startponton, a tesztpróba során pedig láthatta a kis flakont a start ponttól a dobozban át végigmenni egészen a végpontig. Eredményeink azt mutatják, hogy a kutyák szignifikánsan hosszabb ideig nézték a végponton a nagy flakont a teszt során, mint a kis flakont az utolsó habituációs próba alatt (kevert általánosított lineáris modell, $p=0,0084$), míg a kontroll csoportban az alanyok nem nézték szignifikánsan hosszabb ideig a teszt során felbukkanó kis flakont, mint a nagy flakont az utolsó habituáció során ($p=0,1954$). A gravitációs teszt habituációs próbái során az alanyok ($N=9$) egy damilhoz rögzített teniszlabdát láthattak a földre helyezve. Ezt a kísérletvezető lepattintotta a földre, elkapta, majd visszatette a földre. Ezt követően a kontroll során a kísérletvezető felemelte majd letette a földre a labdát, a teszt próba során pedig a damil segítségével a labda „önmagától” felreppent a kezébe. Minden próba után 15 másodpercig kódoltuk a kutya orientációját.

Eredményeink alapján a kutyák nézési ideje itt is megnőtt a teszt próba során az utolsó habituációs próbához és a kontroll próbához képest. Az alanyok tovább nézték a damil által a kézbe felreptetett labdát (habituációhoz képest: kevert általánosított lineáris modell, $p=0,0093$; kontrollhoz képest: $p=0,003$). Összességében elmondhatjuk, hogy a kutyák kísérlet során úgy viselkedtek, mintha rendelkeznének alapvető elvárásokkal arról, hogy 1.) egy tárgy nem képes méretét megváltoztatni külső behatás nélkül 2.) a fizikai objektumokra hatással van a gravitáció, és külső erőhatás nélkül nem mozoghatnak azzal ellentétesen. Ezek alapján úgy tűnik az elvárások megsértése módszer alkalmas fizikai kognitív vizsgálatára kutyák esetében is.

Etol

Menhelyi kutyák ember elleni agressziójának etológiai vizsgálata prediktív viselkedési tesztek kidolgozása céljából

Kis Anna

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológia BSc szak

Témavezető: Gácsi Márta

Annak ellenére, hogy a kutya ember elleni agressziója az egyik legrégebb óta és legintenzívebben vizsgált és vitatott téma a szakemberek körében, a természettudományos igényű etológiai kutatások csak nemrégiben indultak meg. Ezek egyik fókuszában a menhelyi kutyák (potenciális) agresszivitása állt, hiszen a gazdájukra, környezetükre veszélyt jelentő egyedek örökbeadása - mind egészségügyi mind jogi téren - komoly következményeket vonhat maga után. Ugyanakkor a publikálásra kerülő tesztsorozatok még mindig nem alkalmasak gyakorlati kérdések tudományos igényű megválaszolására.

Jelen kutatásunk során gyökeresen új szemszögből közelítettük meg a kérdést. Kísérletünkben egy családi kutyákból álló mintára kidolgozott tesztsorozatot alkalmaztunk menhelyi kutyákra. Azt vizsgáltuk, hogy miként befolyásolja a teszt időzítése (menhelyre kerülést követő első/második napon; illetve két hét elteltével) a kutya tesztben mutatott viselkedését, konkrétan az agresszió megjelenését.

Eredményeink alátámasztják azon hipotézisünket miszerint eltérő az alanyok viselkedése a két különböző időpontban végzett tesztben. A legjelentősebb különbséget ($p=0,008$) a csontelvétele során mutatott agresszióban találtunk. A kutyák viselkedésének változása az idő előre haladtával arra utal, hogy a megfelelő tesztek kidolgozása mellett, azok időzítése is kritikus lehet a hatékony prediktivitás szempontjából.

Etol

A-nem-B hiba vizsgálata kutyákon

Sümegei Zsófia

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológia BSc szak

Témavezetők: Dr. Topál József, Erdőhegyi Ágnes

8-12 hónapos csecsemők tipikusan elkövetnek egy speciális keresési hibát, az ún. A-nem-B hibát. A teszt lényege, hogy egy tárgyat ismételt elrejtenek két rejtekhely valamelyike alá (A) majd miután kialakult a stabil keresési válasz a tárgyat átrettik a másik (B) rejtekhelyre. Ez utóbbi esetben a csecsemők hajlamosak továbbra is az előző helyen keresni. A legújabb kutatások szerint ezt azért teszik így, mert a teszt során a kommunikációs viselkedési jegyekkel kísért rejtési viselkedést félreértelmezik és tanítási helyzetnek tekintik. Mivel a kutyákról is ismeretes, hogy rendkívül érzékenyek az emberi kommunikációs jelzésekre, vizsgálatunk célja az volt, hogy kiderítsük, vajon a kutya - a gyermekekhez hasonlóan - tanítási helyzetként értelmezi-e a klasszikus rejtős-keresős szituációt, vagy más mechanizmusok (is) szerepet játszanak az A-nem-B hiba megjelenésében.

Vizsgálatomban 48 kutya vett részt, amelyet 4 csoportra osztottunk aszerint, hogy a rejtést kísérték-e emberi szociális-kommunikációs jelzések és hogy kellett-e motoros választ adnia a kutyának. Eredményeink szerint azok a kutyák, amelyek esetében kommunikációs jelzésekkel kísérve ember végezte a rejtést szignifikánsan többször követték el az A-nem-B hibát, mint azok, akiknél damillal mozgattuk a tárgyat, vagy passzívan kellett figyelniük az 'A' próbákat. Úgy tűnik, a kutyák keresési hibája részben analóg mechanizmusokkal magyarázható, mint a gyerekéké, s ebben a domesztikációnak lehet szerepe.

Etol

Korai szociális izoláció hatására kialakuló abnormális agresszió

Tulogdi Áron

Szent István Egyetem, Alkalmazott zoológus szak

Témavezető: Dr. Haller József

A gyermekkori szociális környezet zavarai fontos kockázati tényezőt jelentenek a felnőttkori pszichikai rendellenességek, mint például antiszociális erőszakos magatartásformák kialakulásában. Hasonló jelenséget számos állatfajnál is megfigyeltek: több vizsgálat szerint a szociálisan izolált állatok fokozott agresszivitást mutattak. Kevésbé ismertek azonban a szociális izoláció következtében megváltozó szociális kommunikáció és agresszió minőségi jellemzői.

Kísérleteink célja az volt, hogy az agresszív viselkedés mennyiségi és minőségi változásait etológiai módszerekkel jellemezzük olyan felnőtt patkányokban, akik anyjuktól való elválasztásuk óta szociálisan izolációban éltek. Az agresszív viselkedést rezidens-betolakodó tesztben vizsgáltuk. Mértük az állatok stresszhormon-válaszát az agresszív interakció során, valamint *in vivo* biotelemetria módszerrel vegetatív reaktivitásukat is. Az agresszió szabályozásában releváns agyterületek aktiválódását c-Fos immunhisztokémia segítségével vizsgáltuk.

Eredményeink szerint szociális izoláció hatására az agresszió minőségileg is változik: nemcsak gyakoribb, de erősebb, előre nem jelzett támadásokat eredményez, melyek gyakran az ellenfél sérülékeny testrészeire (fejre, hasra) irányulnak. Érdekes módon ez az erőszakos agresszió fokozott védekező magatartással társul. Nem találtunk különbséget a kortikoszteron-alapszintben és az agresszióval együtt járó kortikoszteronszint-változás mértékében sem. Az agresszív interakció során mért, kontroll állatokénál kisebb szívritmus-emelkedés viszont arra utal, hogy a szociálisan izolált állatok agressziója csökkent vegetatív reaktivitással jár, ami a humán antiszociális személyiségzavarra is jellemző. A hipotalamikus támadási zónában nagyobb mértékű aktiválódást figyeltünk meg szociálisan izolált állatokban, míg az amigdala magjai a kontrollhoz hasonló mértékben aktiválódtak.

Eredményeink szerint a patkányok korai szociális izolációja által kiváltott abnormális agresszív viselkedés több szempontból is jó modellje bizonyos, gyermekkori szociális zavarokból adódó, erőszakkal társult, humán pszichikai rendellenességeknek.

Etol

Megfigyelt temperamentum jellemzők csecsemő- és kisgyermekkorban

Varga Zsófia

Szent István Egyetem, Alkalmazott zoológus szak

Témavezetők: Dr. Gervai Judit, Dr. Kabai Péter

A környezet ingereire való viselkedéses válaszok (temperamentum) már újszülött korban különböznek, ami biológiai meghatározottságra utal. Az egyed viselkedését befolyásolhatja a központi idegrendszerben a jelátvitel minősége. A neurotranszmitterek által kiváltott jel erőssége függ a receptor szerkezetétől, amit a DNS szekvencia határoz meg.

Dolgozatomban korai temperamentum vonások és két neurotranszmitter receptor, a dopamin D4 receptor és a μ -opioid gén polimorfizmusa közötti kapcsolatot vizsgáltam 16 hónapos kisgyermekben. A dopamin szabályozza az érzelmi válaszokat, a mozgást és része az agy jutalmazó rendszerének. Az opioid rendszer többek közt a társas kötődés szabályozásában vesz részt. A dopamin D4 receptor génben 2-10-szer ismétlődik egy 48 bázispárból álló szakasz. Korábbi vizsgálatok kapcsolatot találtak a DRD4 gén 7-szeres ismétlődésű alléljének előfordulása és a felnőttek újdonságkereső magatartása között. A μ -opioid receptor génjében a 118. helyen lévő adenin helyére guanin épülhet be, ezáltal a receptor erősebben köti a ligandot. E polimorfizmust a szeparáció során átélt stresszválással hozták összefüggésbe.

A temperamentum vonások meghatározását Idegen Helyzet Tesztben (IHT) mutatott viselkedés megfigyelésével végeztem. Az IHT 8 epizódból álló kísérlet, amely a kötődési viselkedés és az exploráció egyensúlyának mérésére alkalmas és használható a gyermekek temperamentumának mérésére is. A 2. epizódban az új tárgyi környezetre, a 3.-ban az új szociális környezetre adott válaszokat figyelhetjük meg. A 4., 6. és 7. epizódban a szülőtől való szeparáció hatását vizsgálhatjuk.

A 7-es ismétlődésű DRD4 alléllal rendelkező gyermekek kevésbé voltak feszültek, mint az egyéb allélt hordozó gyermekek, továbbá a fiúk esetében nagyobb volt a hatás, mint a lányokéban. A μ -opioid receptor génben AA genotípusú gyermekek több stresszre utaló viselkedési jegyet mutattak szeparáció alatt, mint az AG genotípusúak. Ez a kapcsolat a három szeparációs epizód közül kettőben volt kimutatható.

Jelen vizsgálatban kapcsolatot találtunk a D4 dopamin és a μ -opioid receptorgének polimorfizmusa és temperamentum vonások között. Eredményeim összhangban vannak néhány korábbi vizsgálat eredményeivel. Eddig nem volt ismert a DRD4 polimorfizmus nemenkénti elérő hatása.

Florisztika, faunisztika tagozat

Időpont: Április 8. 15:00

Terem: N épület, 246. terem

A zsűri elnöke: **Dr. Hornung Erzsébet**, intézetvezető egyetemi docens
Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar,
Ökológiai Tanszék

tagjai: **Mészáros András**, örkerületvezető
Balaton-felvidéki Nemzeti Park

Dr. Szinetár Csaba, főiskolai tanár
Nyugat-magyarországi Egyetem, Állattani Intézeti
Tanszék

15:00	Csász István	DE TTK	Időnyújtásos ultrahang-detektorok alkalmazása a magyarországi denevérfaunisztikai adatbázisok fejlesztésében és denevér monitorozó rendszerek bővítésében
15:20	Dömötör Dóra	SZTE TTIK	A Kulléri Nagyerdő újratérképezése és az elmúlt tizenöt év változásai
15:40	Görföl Tamás	KE ÁTK	A fehérszélű törpedenevér és az alpesi denevér terjedése Magyarországon
16:00	Kálmán András Péter	PTE TTK	Magyarország vízbogár-faunájának alapvetése – a fajok hazai előfordulási jellemzőinek értékelése faunisztikai adatok alapján
16:20	Kálmán András Péter	PTE TTK	Vízi makrogerinctelenek faunisztikai vizsgálata a Görög szigetvilágban (Rodosz, Kréta)
16:40	Szünet		
16:50	Kárpáthegy Péter	ELTE TTK	Faunára új álskorpiófajok Magyarországon
17:10	Kocsis Tamás	NYF TTK	A Boroszló-kerti-Holt-Tisza cönológiai felmérése
17:30	Pásztor Szilvia	PE GMK	A fagyöngy (<i>Viscum album</i> L.) elterjedésének és morfológiai bélyegeinek vizsgálata
17:50	Takács Attila	DE TTK	A Hejő-mente élőhelyeinek bemutatása és értékelése

FlorFaun

Időnyújtásos ultrahang-detektorok alkalmazása a magyarországi denevérfaunisztikai adatbázisok fejlesztésében és denevér monitorozó rendszerek bővítésében

Csősz István
Debreceni Egyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Varga Zoltán, Szodoray-Parádi Farkas

Mint számos tudományterületen, a denevérkutatásban is, napjainkban a hagyományos monitorozó módszerek mellett (hálózás, szülő kolóniák számlálása, hibernáló kolóniák számlálása) egyre nagyobb teret nyer a technikai módszerek (ultrahang-detektorok) elterjedése.

Az időnyújtásos ultrahang-detektor fogalmát Ahlén és Pettersson vezette be a köztudatba (Ahlén *et al.* 1985; Pettersson 1985; 1999), de az eszköz Magyarországon sem teljesen ismeretlen (Zsebők 2003). Az időnyújtásos ultrahang-detektor használata ma már általánosan elterjedt a világon a denevérkutatók körében. Számos kutatási területen hasznosítják például a viselkedésokológiai vizsgálatok esetében (Straka *et al.* 2008), de egyre jobban elterjed, mint a monitorozás eszköze is (Ahlén *et al.* 1999, De Wijs *et al.* 1999, Szodoray *et al.* 2008). Magyarországon monitorozás és ultrahang adatbázis létrehozásának céljából először 2007-ben került kipróbálásra. Két év alatt, a 2007-2008-as évek folyamán 14 sikeres hangfelvételt készítettünk, öt különböző mintaterületen, melyeken összesen 1352, denevérek által kibocsátott ultrahangot sikerült felvenni, majd meghatározni. A magyarországi hangfelvételeken a *Rhinolophus* és a *Plecotus* nemek fajainak kivételével, minden hazai fajt sikerült detektálni: *Barbastella barbastellus* (Schreber 1774), *Eptesicus nilssoni* (Keyserling et. Blasius 1839), *Eptesicus serotinus* (Schreber 1774), *Hypsugo savii* (Bonaparte 1837), *Miniopterus schreibersii* (Kuhl 1817), *Nyctalus lasiopterus* (Schreber 1780), *Nyctalus noctula* (Schreber 1774), *Nyctalus leisleri* (Kuhl 1817), *Pipistrellus kuhlii* (Kuhl 1817), *Pipistrellus nathusi* (Keyserling et Blasius 1839), *Pipistrellus pipistrellus* (Schreber 1774), *Pipistrellus pygmaeus* (Leach 1825), *Vespertilio murinus* (Linné 1758), valamint a *Myotis* nemet.

A kutatási eredmények alapján elmondható, hogy az időnyújtásos ultrahang-detektor jól alkalmazható monitorozás és ultrahang adatbázis készítéséhez is.

FlorFaun

**A Kulléri Nagyerdő újratérképezése és az elmúlt tizenöt év
változásai**

Dömötör Dóra
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Bagi István

Az erdei tisztásokkal és kaszálórétekkel gazdagon tarkított Kulléri Nagyerdőt a Duna-Tisza köze lápos laposait egykor uraló alföldi láperdők maradványának tekintik. Az erdőt közvetlenül övező értékes üde, nedvességkedvelő társulások (kiszáradó kékperjés láprétek és üde mocsárrétek) különösen jelentős természeti értéket képviselnek, mert ezeknek a döntő többsége regionálisan áldozatul esett a lecsapolásoknak és a talajvíz süllyedésének. A terület ezért UNESCO bioszféra-rezervátum magterület. Az erdőnek és környékének vegetációtérképét eddig kétszer készítették el, Tölgyesi 1979-ben, Bagi 1989-ben. Vizsgálatunk célja a terület mai állapotának felmérése, és az elmúlt tizenöt év változásainak értékelése volt. Az újabb vegetációtérkép elkészítésére 2005-ben került sor.

A vizsgált területre legjellemzőbb élőhelycsoportok az erdők, mocsarak, üde rétek, ezeken kívül előfordulnak még szikesedő gyepek, szántók és felhagyott szántók. Ezek egymáshoz viszonyított aránya az elmúlt tizenöt év alatt kissé változott. Az üde rétek területi részesedése csökkent, ezzel szemben a mocsarak és az erdő kiterjedése növekedett. Az időközben felhagyott szántók, regenerálódó parlagok rendszerint fajszegény, gyomos területek maradtak.

Az egyes csoportokon belül vizsgálódva még több változás tapasztalható. A legfeltűnőbbek az értékes kékperjés láprétekben, valamint a csenkeszes kaszálórétekben bekövetkezett változások. Tizenöt évvel ezelőtt a legtöbb láp- és mocsárrétek tekintett állomány lényegében a *Succiso-Molinietum* és a *Cirsio cani-Festucetum pratensis* társulások typicum-jaiából, vagy azok mozaikjaiból állt. Mára viszont mindkét társulás összetétele, szerkezete átalakulóban van: A tipikus állományok mellett különböző szubasszociációk váltak elkülöníthetővé. Jelentőssé vált a *deschampsietosum*, a magasabb térszíneken sztyeppesedést mutató *chrysopogonetosum* aránya, mintaterület délnyugati részén pedig a nád dominanciájának növekedése.

A változások figyelembe vételével, különös tekintettel a nád rohamos terjedésének visszaszorítására, minél előbb, egy megfelelő természetvédelmi kezelési terv kidolgozására van szükség. Az elnádásodó területek kezelésére az évi egyszeri (augusztusi) kaszálás lenne a legcélravezetőbb, mellyel lassítható a nád további terjedése, és hosszabb távon talán a visszaszorulását is eredményezi. A jövőbeni változások nyomon követésére elengedhetetlen a terület további, folyamatos monitorozása.

FlorFaun

**A fehérszélű törpedenevér és az alpesi denevér terjedése
Magyarországon**

Görföl Tamás

Kaposvári Egyetem, Természetvédelmi mérnök BSc szak

Témavezető: Dr. Lanszki József

Dolgozatomban a fehérszélű törpedenevér (*Pipistrellus kuhlii*) és az alpesi denevér (*Hypsugo savii*) magyarországi előfordulási adatait, terjedését és ennek lehetséges okait tárgyalom. A vizsgálatba bevont két faj Európában alapvetően mediterrán elterjedésű, de az utóbbi két évtizedben egyre több közép-európai országból jelezték előfordulásukat. A fehérszélű törpedenevért hazánkban 1993-ban észlelték elsőként, míg az alpesi denevért 1991-ben fogták meg először a Bükkben.

Vizsgálataink során 109 hálózást (közel 1000 terepi óra) végeztem az ország legkülönbözőbb pontjain, melyek során 3879 denevért fogtam be. Ezek közül 55 pld. fehérszélű törpedenevér és 33 pld. alpesi denevér volt. Jelentősen hozzájárult vizsgálataink sikerességéhez a denevérdetektorok alkalmazása is. Közel 30 GB hangfelvételt készítettünk, melyek számítógépes elemzése kb. 60 órát vett igénybe.

A 2008 júniusában végzett denevérdetektoros felmérésünk során Magyarország 67 települését kerestük fel. Minden vizsgált településen 10 percre álltunk meg és rögzítettük az észlelt denevérfajok hangját, majd azt vizsgáltuk, hogy befolyásolja-e a település nagysága, a domborzat vagy a földrajzi szélesség a fehérszélű törpedenevér elterjedését. Domborzat és településnagyság tekintetében nem találtunk különbséget, de az ország déli részén található felmérési pontokon szignifikánsan több helyről került meg a faj.

Ez az eredmény alátámasztja a faj délről északi irányban való terjedésének hipotézisét. Az alpesi denevér jelenleg még meglehetősen ritka előfordulású, csak 14 helyről került meg, de két településről is sikerült szaporodó állományát kimutatnunk. Az areabővülés lehetséges okai között említhető a globális felmelegedés, illetve olyan változatok elterjedése, melyek kiválóan alkalmazkodtak a települések nyújtotta környezethez és így sikeresek lehetnek északabbra fekvő országokban is. A 2008-ban megkezdett denevérdetektoros település-felmérések megismétlésével részletesebb képet kaphatunk majd a két faj terjedéséről.

FlorFaun

Magyarország vízibogár-faunájának alapvetése – a fajok hazai előfordulási jellemzőinek értékelése faunisztikai adatok alapján

Kálmán András Péter
Pécsi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Csabai Zoltán

A vízibogarakra irányuló faunisztikai kutatások intenzitása az elmúlt 20 évben jelentősen megnövekedett. Az utóbbi 10 évben 26 új faj került elő a magyar faunára. A közölt publikációk összefoglalása először 2003-ban történt meg, ami gyűjtemények felülvizsgálata mellett az egyes fajok előfordulási térképeit, fajok gyakorisági kategóriákba sorolását, értékelését, valamint az adatok rendszerezését tartalmazta.

A 2003-ig és a 2008-ig keletkezett adatok feldolgozásával az aktuális vízibogár fauna jelenlegi helyzetét, valamint az öt évvel ezelőtti állapothoz képest a vízibogár fauna változását vizsgáltuk. Az adatokat MS Access 2003 programcsomag alkalmazásával létrehozott relációs adatbázisban rögzítettük és rendszereztük. Az adatokból rendezés, átalakítás és értékelés után ArcView 3.1 programcsomag segítségével elkészítettük az összesítő térképeket és a 206 vizsgált faj előfordulási UTM hálótérképét.

A jelen dolgozatban közölt eredmények kb. 125 000 példány több mint 30 000 adatán alapulnak (közel 10 000 gyűjteményi és több mint 20 000 publikált adat), amelyek közel 2300 lelőhelyről származnak. Ezek a lelőhelyek a Magyarországot lefedő 1060 UTM hálómezőből 670-ben oszlanak el, elméletben 63%-os lefedettséget biztosítva. A 2003-as feldolgozás „csak” mintegy 17 000 adaton alapult, a lefedettség 51%-os volt, ami 551 UTM hálómezőt jelentett. Az eddig feldolgozott publikációk száma 265. Az előző feldolgozás alapján mi is gyakorisági kategóriákat rendeltünk az egyes fajokhoz [„igen gyakori” 15 faj (relatív gyakoriság > 30%), „gyakori” 26 faj (20-30%), „mérsékelten gyakori” 71 faj (5-20%), „ritka” 25 faj (2-5%), „igen ritka” (<2%)]. A 2003-as állapothoz képest 12 fajnak emelkedett, míg 11 fajnak csökkent a relatív gyakorisági kategóriája, valamint az előfordulások százalékos értékei is jelentősen emelkedtek. A 2003-as közlemény adataiban az áramló és az álló vizek aránya kb. 10-90%-os eloszlást mutatott. Jelen állapot szerint ez 40-60%, ami jól tükrözi, hogy az elmúlt öt évben a kutatások erőteljesebben koncentráltak az áramló vizekre. Elsősorban az áramló vizet kedvelő fajok növekedése a szembetűnő, akár 70-80%-os, de az állóvizet preferáló fajok esetében is megfigyeltünk akár 50-70%-os emelkedést.

A 2003-as feldolgozás még nem tartalmazta a karmosbogarak értékelését, mert a csoport vizsgálata csak az elmúlt években indult meg. Emiatt értelemszerűen sokkal kevesebb adat áll a rendelkezésünkre e család tekintetében, így ezt nem célszerű más csoportok összesített adataival együtt vizsgálni. Ezért az egyes fajok gyakoriságát a rendszertani kategóriákon belüli összesített előforduláshoz viszonyítva is megadtuk.

FlorFaun

Vízi makrogerinctelenek faunisztikai vizsgálata a Görög szigetvilágban (Rodosz, Kréta)

Kálmán András Péter
Pécsi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Csabai Zoltán

Görögország és különösen a görög szigetvilág feltártsága faunisztikai szempontból igen alacsony, amit jól tükröz a környező mediterrán területek faunájának ismertségével való összehasonlítás. Olaszország és Spanyolország vízi gerinctelen faunájának fajszáma több mint kétszerese a jelenleg ismert Görög faunának, a szigetek pedig még rosszabb helyzetben vannak az ismert fajok számának tekintetében.

Rodosz szigetén 2007. február 12. és 26. között 58 mintavételi ponton, Kréta területén pedig 2008. február 12. és március 04. között 115 mintavételi ponton gyűjtöttünk. Mintáinkat elsősorban vízi hálók segítségével vettük, néhány esetben uszadék-hálóként alkalmazva ezeket, valamint kiegészítve kövek, növények felszínéről végzett kézi egyeléssel. Az áramló vizekben a „kick and sweep” módszert alkalmaztuk mintavételezéseink során. A mintavételi helyek között megtalálhatók voltak a kistavak, víztározók, patakok, kisebb medencék, mocsarak, pocsolyák, foglalt és természetes aljzatú források, valamint mesterséges élőhelyek, mint például fürdők, vízgyűjtő edények és hordók vizei is.

A szigeteken a kevés számú állandó áramló- és állóvizek mellett elsősorban a mediterrán területekre jellemző asztatikus időszakos vízfolyások jellemzőek, ez indokolta a „téli” mintavételi időpontokat. Rodoszon az 58 mintavételi helyről 119 faj előfordulását regisztráltuk. A vizek közül jelentősen kiemelkedik a Loutanis folyó, melyből 64 faj került elő, 12 fajt kizárólag ebben a vízrendszerben fogtunk. A 119 faj közül 27 faj Görögország területéről első ízben került elő, valamint 61 faj a dodekanészoszi szigetvilág és Rodosz faunájára új. Ez a gyűjtött fajok fele. A *Rhagovelia nigricans nigricans* (Burmeister, 1835) (*Heteroptera*) eddig csak Ciprusról volt ismert, a *Sigara nigrolineata nigrolineata* (Fieber, 1848) (*Heteroptera*) előfordulása pedig a görögországi faunára nézve új adat. A tudomány számára eddig ismeretlen 2 *Baetis* (*Ephemeroptera*) faj leírását segítettük lárva adatok gyűjtésével. Eredményeink alapján 1 faj (*Laccobius cretaeus* Gentili, 1975) (*Coleoptera*) esetében taxonómiai státuszváltozás történt, az eddig alfajként ismert taxon faji státuszt kapott. Krétán a 115 mintavételi helyből eddig 63 faj előfordulását regisztráltuk, de a kérészek, tegzesek és az árvaszúnyogok, valamint a csiborok határozása még folyamatban van. Görögország faunájára 1 új faj (*Gerris asper* (Fieber, 1860) (*Heteroptera*)) került elő.

A sziget faunájára 6 új faj előfordulását regisztráltuk. Kréta területén nagy egyedszámban gyűjtöttük 5, a szigetre nézve endemikus faj egyedeit. A Krétáról gyűjtött fajok jegyzéke természetesen a még feldolgozatlan taxonok vizsgálatának befejeztével jelentősen bővülni fog.

FlorFaun

Faunára új álskorpiófajok Magyarországon

Kárpáthegyi Péter

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Környezettudomány szak

Témavezető: Dr. Kontschán Jenő

Magyarország álskorpió faunájáról kevés ismerettel rendelkezünk. Vizsgálataim során, több mint 2000 egyedet határoztam meg Magyarország különböző területeiről.

Ezen fajok közül előkerült hazánk faunájára hat új faj: az Aggteleki-karszton és a Zempléni-hegységben a *Neobisium fuscimanum* C. L. Koch 1843; a Zempléni-hegységből a *Chthonius heterodactylus* Tömösváry, 1883; az Aggteleki-karszt-ról a *Chthonius pygmaeus* Beier, 1934; a Dél-Dunántúlról a *Neobisium macrodactylum macrodactylum* Daday, 1887; Tótszentgyörgy környékéről az *Allochernes wideri* C. L. Koch, 1843 és Nagyrécsce környékéről a *Dinocheirus panzeri* C.L. Koch, 1837.

Így Magyarország ismert álskorpiófajainak száma 33-ról 39-re növekedett.

Dolgozatomban ezen fajokat mutatom be, illetve saját rajzaimmal illusztrálom.

FlorFaun

A Boroszló-kerti-Holt-Tisza cönológiai felmérése

Kocsis Tamás
Nyíregyházi Főiskola, Biológia BSc szak

Témavezető: Dr. Szabó Sándor

Az EU Víz Keretirányelv végrehajtása érdekében a víztestekre el kell végezni az ökológiai állapot felmérését. Az állapotértékelésben a biológiai minőségi elemekre alkalmazott 5 osztályos minősítés viszonyítási alapja az adott víztípus referencia (kiváló) állapota.

A makrovegetáció vizsgálatára és minősítésére alkalmas uniós módszertan hiányában egy nemzeti útmutató került kidolgozásra.

Munkám célja a természetközeli állapotú Boroszló-kerti-Holt-Tisza - mint más elemek alapján igazoltan referencia állapotú víztér- cönológiai felmérésére alapozva e módszertan tesztelése volt.

2008.-ban a vegetációs időszakban 3 alkalommal, a holtmederben kiválasztott 8 mintaterületen a növényzet zonációját, mozaikosságát figyelembe véve mintaterületenként 3-6 felvételi négyzetben meghatároztam az ott előforduló fajokat/taxonokat, és a módosított Braun-Blanquet skála alapján A-D értéküket. Feljegyeztem a mintaterületeken a zónák számát, és a felmérések idején jellemző összborítottaságot is. A hínár társulások közül a *Ceratophylletum demersi*, *Ceratophyllo-Nymphaetum albae*, *Trapaetum natantis*, míg a mocsári növényzetben a *Typhetum angustifoliae*, *Glycerietum maximae*, *Sparganietum erecti* előfordulása volt jellemző. Ezenkívül említésre méltók természetes ligeterdő maradványok, a degradációt jelző gyomtársulások, adventív fajok térhódítása. Korábbi évek felmérési eredményeivel összehasonlítva, eltűntek a különböző békalencse és rence fajok. A hínár fajok elterjedését és a mocsári növényzet állapotát jelentősen befolyásolta a júliusban történt árvízi elöntés.

A mintaterületekre vonatkozóan a 3 felmérés összesített fajlistáit és átlagos A-D értékeit használva kiszámoltam az Integrált Makrofita Minősítési Indexeket (IMMI), amelyben a referencia-jellemzők a természetességi (T_i), zonáció (Z_i %), a nedvességigény (W_i) és a növényzetfedettség (F_i) indexek. A típus specifikus referencia állapottal való összevetéshez ezek az indexek- szakértői becslés alapján történt súlyozással - együttesen határozzák meg az IMMI EQR értéket. A tó tipológiában jelenleg nem szerepelnek a hullámtéri holtmedrek. A számításokhoz a holtmedret sajátosságai alapján a 9. típusba (síkvídedi, meszes-szerves, < 3 m mély, kicsi, állandó tó) soroltam. Mivel a hullámtéri holtmedrek jelentős értéket képviselnek, javasoljuk, hogy a későbbiekben kerüljenek be a tipológiai besorolásba.

A 8 mintaterületre elvégzett számítások szerint a holtmeder egyes részei jó, míg más szakaszai közepes ökológiai állapotban vannak. Az IMMI EQR értékek összefüggésben vannak az emberi hatások okozta degradációval (horgászat, mezőgazdaság). A makrofita minősítés eredménye nem igazolta a referencia állapotot. Javasolható a számítási módszerben rejlő további lehetőségek kipróbálása, és az adott víztípusra meghatározott referencia feltételek áttekintése.

FlorFaun

A fagyöngy (*Viscum album* L.) elterjedésének és morfológiai bélyegeinek vizsgálata

Pásztor Szilvia
Pannon Egyetem, Növényorvos szak

Témavezető: Dr. Fischl Géza

Hideg télben is a virító életet szimbolizáló, örökké zöldellő növény, mely az ég és a föld között, fákhöz szorosan kötődve él. Mindig is nagy misztikum és tisztelet övezte a fagyöngy létét, bármely korba is tekintünk vissza.

Vizsgálataim célja, hogy az általam oly régóta kedvelt és fontosnak tartott növényről, minél több információt tudjak meg, legyen az bármely tudományterület.

Két helyszínen végeztem részletesebb megfigyeléseket, Péli-földszentkereszten és Keszthelyen, Jelen vizsgálatom célja a *Viscum album* L. gazdanövényenkénti morfológiai változékonyságának vizsgálata. A felméréseket Péli-földszentkereszten (*Prunus cerasifera*, *Robinia pseudoacacia*, *Acer campestre*, *Acer pseudoplatanus*) fajokról származó fagyöngyökön végeztem, fiatal és idősebb fákon egyaránt.

Ezeken a fagyöngy „bokrokon” jelentős eltéréseket tapasztaltam. A különbség a levelek minőségében, sűrűségében, méretében és a szár noduszonkénti hosszában nyilvánult meg. Az akácon élő fagyöngy levelek lényegesen nagyobb felületűek, mint bármely fajtáról származó célnövényé. Ugyanezen a gazdanövényen figyeltem meg, hogy a fagyöngy fertőzését követően a megbetegített ágrészeken gyantaszzerű anyag vált ki. Szakirodalmi adatok szerint az említett exudatum a „visci-gyanta”. Más fajok esetében ezzel a tünettel nem találkoztam.

Keszthelyen az Alsópáhokra vezető 75-ös út eleje és a 71-es út vége között fekvő nyárfa ültetvényben végeztem további felméréseket.

A fagyöngyök fákon való elhelyezkedését db szám szerint felvételeztem. A vizsgálatok alapján a fagyöngy a fák középső harmadában helyezkedett el. Az ültetvény szélén lévő fákon többnyire középen és felül, az ültetvény belsejében viszont alul és a középső harmadban volt gyakoribb a *Viscum* előfordulása. Ahol a fény erőteljesebben érte a fákat, nagyszámú fagyöngy populáció alakult ki.

Az említett nyárfa ültetvényen megtelepedő *Viscum* növényeken a viszonylag jól ismert *Botryosphaeria visci* hiperparazita gombafaj mellett egy, a fagyöngyöt parazitáló új gombafaj általi fertőzésre figyeltem fel. Laboratóriumi, mikroszkópos vizsgálattal azonosítottuk a *Septoria visci* gombafajt, amely csak a leveleket fertőzte.

A jövőben tervezem a fagyönggyel kapcsolatos további vizsgálatok végzését, amely kiterjed a fagyöngy beltartalmi mutatóinak megállapítására, illetve a fagyöngyöt parazitáló gombafajok azonosítására.

FlorFaun

A Hejő-mente élőhelyeinek bemutatása és értékelése

Takács Attila
Debreceni Egyetem, Biológia BSc szak

Témavezető: Dr. Molnár V. Attila

Bár hazánk területén évszázadok óta kiváló terepbotanikusok kutatnak intenzíven, a mai napig elmondható, hogy vannak olyan tájaink, melyek flóráját, vegetációját, tájtörténetét, stb. nem vagy csak igen hiányosan ismerjük. Egyik ilyen alulreprezentált szeglete Magyarországnak a Hejő-mente.

Munkám során arra törekedtem, hogy e terület élőhelyeit kellő alaposággal megismerjem, és annak élőhely-térképét elkészítsem. Céлом volt, hogy egy olyan anyagot állítsak össze, mely hűen reprezentálja, hogy milyen képet mutat(ott) a Hejő-mente növénytakarója 2008-ban. A természetvédelmi, mezőgazdasági (azaz tájhasználati) kezelések és beavatkozások tervezésénél ennek ismerete véleményem szerint mindennél fontosabb.

A terület élőhely-térképének elkészítéséhez segítséget nyújtottak a FÖMI által 2005-ben a területről készített légi fotók. A felvételeken színek alapján is jól elkülöníthető foltokat már a terepen jelöltem, sorszámmal láttam el és Á-NÉR kategóriákba soroltam azokat. A foltjellemezéseken túl állomány fajlistákat készítettem. Adventív fajok és védett fajok jelenlétét minden esetben feljegyeztem.

A terepen gyűjtött adatok alapján ArcView GIS 3.3 programmal Á-NÉR2007 alapú élőhelytérképet illetve természetességi-degradáltsági térképet rajzoltam.

189 élőhelyfoltot sikerült elkülönítenem. Ezeket 17 élőhelytípusba soroltam be. Legnagyobb területet a kifejezetten vízigényes élőhely típusok foglalnak el (összesen: 49 %): nem tőzegképző nádasok (B1b), tőzegképző nádasok (B1b), magassásrétek (B5), csatornák és hozzájuk kapcsolódó mocsarak (BA), mocsársrétek (D34) és égeres láperdők (J2). Jelentős kiterjedésű (9 %) löszgyepeket (H5a) is fellelhetünk a vizsgált területen, ezek azonban sajnálatos módon a birkalegelés illetve az intenzív kaszálás miatt jellegtelenek. A J2 típusú élőhelyfoltokhoz képest kicsi az aránya a J6, azaz a keményfás ártérierdő élőhelytípusnak (1 %). A jellegtelen száraz gyepek kiterjedése igen jelentős (14 %). Ezek feltételezhetően korábban mocsársrétek, esetleg magassásrétek lehettek, a számottevő vízvesztesség miatt azonban a vízigényes fajok visszaszorulnak, míg a száraz gyepek fajai felszaporodnak. Sajnálatos, hogy a nemesnyaras telepítéseket (S2) is nagy területet foglalnak el (6 %). Méginkább szomorú, hogy a szántóföldek (T6) kiterjedése is jelentős (17 %).

Tapasztalatom szerint a Hejő-mente érdekes és értékes élőhelyeknek ill. fajoknak nyújt otthont. Kedvezőtlen (többnyire antropogén eredetű) hatások miatt azonban ezek az élőhelyek folyamatosan pusztulnak, jellegtelenednek. A területileg illetékes önkormányzatok bár tisztában vannak a birtokukban lévő értékek meglétével, de azok felkarolásához (anyagi) érdekük nem fűződik.

Genetika I. tagozat

Időpont: Április 9. 09:00

Terem: O épület, 5. terem

A zsűri elnöke: **Dr. Mihály József**, tudományos főmunkatárs
MTA Szegedi Biológiai Központ, Genetikai Intézet

tagjai: **Dr. Hoffmann Gyula**, egyetemi docens
Pécsi Tudományegyetem, Genetikai és Molekuláris
Biológiai Tanszék

Dr. Kalmár Lajos, posztdoktor kutató
MTA SZBK Enzimológiai Intezet

09:00	Balogh Dávid	SZTE TTIK	Új fehérjék azonosítása a Rad6-Rad18 posztreplicációs DNS hibajavítási útvonalban
09:20	Bányai Gábor	DE TTK	A <i>Schizosaccharomyces japonicus</i> hasadóélesztő feltehetően Sep10 Mediátor komplex alegységét kódoló gén komplementációs vizsgálata deléciós mutánsban <i>Schizosaccharomyces pombe</i> sep10
09:40	Juhász Szilvia	SZTE TTIK	A homológ rekombináció és a nem homológ végeket összekapcsoló mechanizmusok arányának mérésére alkalmas riporter rendszer építése és alkalmazása humán sejtekben
10:00	Nagy Viktória	SZTE TTIK	Az Aujeszky-féle vírus genom transzkripciósi analízise
10:20	Pásti Gabriella	ELTE TTK	Egy autofág fehérje::riporter konstrukció, a GFP::LGG-1 expressziós mintázatának jellemzése a <i>Caenorhabditis elegans</i> embrionális fejlődése során
10:40	Szünet		
10:50	Téglás Tímea	NYF TTFK	Az UbcD6 gén genetikai és molekuláris sejtbiológiai elemzése
11:10	Tóth Anna	SZTE TTIK	A humán akrocentrikus kromoszómák rövid karján lévő szegmentális duplikációk vizsgálata

Gen_1

Új fehérjék azonosítása a Rad6-Rad18 posztreplicációs DNS hibajavítási útvonalban

Balogh Dávid
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Haracska Lajos, Pintér Lajos

Az élőlények sejtjeit folyamatosan érik különféle károsító hatások, amelyek megváltoztathatják az örökítőanyagot. Ha egy DNS hiba nem javítódik ki a sejtciklus S fázisáig, annak következtében a replikációs villa megáll, ami kromoszómatorésekhez, sejthalálhoz vezethet. Ennek elkerülésére alakult ki a posztreplicációs repair (PRR), a DNS hiba-tolerancia mechanizmusa, amely képes az elakadt replikációs villa mentésére. Élesztőben e mechanizmus során a PCNA fehérje a Rad6-Rad18 ubiquitiláló komplex segítségével a 164-es lizinjén monoubiquitilálódik, majd a replikatív polimeráz lecserélődik egy, a hiba átírására képes alternatív polimerázra. Ez a folyamat mutációt generálhat.

Egy másik, hibamentes átírást biztosító PRR mechanizmus során a PCNA az Mms2-Ubc13-Rad5 komplex által az ubiquitin 63-as lizinjén keresztül poliubiquitilálódik, majd a Rad5 fehérje a replikációs villát visszafordítja. Az így létrejött DNS szerkezeten a károsodott szálát egy DNS polimeráz képes megfelelően átírni a már megszintetizált utód szálát használva templátként. Hasonló mechanizmusra képesek humán sejtekben a HLTf helikáz - a Rad5 humán homológia -, illetve a Werner helikáz, és a vele kölcsönhatásban lévő hMGS1 fehérje.

Célunk, a humán PRR-ben szerepet játszó új fehérjék azonosítása, amelyek segítségével jobban megérthetjük, hogyan történik az elakadt replikációs villa felismerése, hogyan valósul meg a szabályozás a Rad18 és a Werner helikáz útvonalai között.

Kísérleteinket két fehérje, az UBZ1 és a HLTf kölcsönható partnereinek keresésével végeztük, élesztő kéthibrid rendszerben. Az UBZ1 fehérje funkciója még nem ismert, azonban egy speciális ubiquitin kötő cink-finger (UBZ) domént tartalmaz. Ez a domén főként DNS reparációban részt vevő fehérjékben, mint a Rad18-ban, és a Werner helikázzal kölcsönhatásba lépő hMGS1 fehérjében található meg.

Az élesztő kéthibrid kísérletek során azonosított pozitív klónok közül a MURR1 (COMMD1) fehérjével végeztük további kísérleteinket. A MURR1 kölcsönhatott a Rad18, és a hMGS1 UBZ doménjével is, így szerepet játszhat a két útvonal hasonló szubsztrátjainak felismerésében. A MURR1 fehérjét túltermeltük és *in vitro* ubiquitilációs kísérletekkel vizsgáljuk a Rad18 szubsztrátfelismerésére gyakorolt hatását.

A HLTf-el végzett kéthibrid kísérletben azonosítottuk többek között az Ubiquitin B fehérjét. Mivel a HLTf a PCNA poliubiquitilálása során nem lép közvetlen kapcsolatba az ubiquitinnel, megvizsgáltuk, hogy a kapcsolat befolyásolja-e a HLTf ismert aktivitásait, esetleg van-e szerepe a szubsztrát azonosításában. Eredményeink közelebb vihetnek a károsodott humán DNS replikáció pontosabb mechanizmusának, és szabályozásának megértéséhez.

Gen_1

**A *Schizosaccharomyces japonicus* hasadóélesztő feltehetően Sep10
Mediátor komplex alegységét kódoló gén komplementációs
vizsgálata *Schizosaccharomyces pombe* sep10 deléziós mutánsban**

Bányai Gábor
Debreceni Egyetem, Molekuláris biológus/genetikus szak

Témavezető: Batta Gyula

Munkám célja a *Schizosaccharomyces pombe* sep10 génjével homológ *S. japonicus* gén megkeresése és komplementációs vizsgálata volt.

A *S. japonicus* genomjában bioinformatikai módszerekkel megkerestük a *S. pombe* sep10/med31 génjére és az általa kódolt fehérjére nagymértékben hasonló gén és fehérje szekvenciáját.

Az azonosított gént (SJAG_04647.2) klónoztuk egy tiamin által represszálható expressziós plazmidba (159. plazmid - pYZ1N), majd az így előállított vektorral (264. plazmid) transzformáltunk egy sep10 deléziós mutáns *S. pombe* törzset (2-922).

A transzformánsokat morfológiai vizsgálatoknak vetettük alá, majd megállapítottuk, hogy a vizsgált géntermék komplementálja a mutáció okozta fenotípust. A hifás fenotípus megszűnt, a sejtek a citokinezist hibátlanul hajtották végre. Spórázató körülmények között az ivari differenciálódás folyamatai végbementek: konjugáltak és aszkuszt képeztek.

Végeredményben azonosítottuk a *S. japonicus* sep10/med31 génjét.

Gen_1

A homológ rekombináció és a nem homológ végeket összekapcsoló mechanizmusok arányának mérésére alkalmas riporter rendszer építése és alkalmazása humán sejtekben

Juhász Szilvia

Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Haracska Lajos, Dr. Török Tibor

A sejt örökítő anyagát folyamatosan érik külső és belső forrásból származó károsító hatások, amelyek DNS hibákat okozhatnak. Az S fázis során a DNS hibák a replikációs villa megakadását és kettősszalú DNS töréseket eredményezhetnek, amelyek a sejt halálához vezetnek. Így azok javítása létfontosságú feladat a sejtek számára. A kettősszalú DNS törések javítására specializálódott mechanizmusok a homológ rekombináció (HR) és a nem homológ végeket összekapcsoló mechanizmus (NHEJ). A fő különbség köztük abban áll, hogy míg a HR hibamentesen, általában a testvér kromatidról történő másolással javítja a kettősszalú törést, addig a NHEJ, a javítás során a szabad DNS végek random összekapcsolása következtében mutációt, illetve deléciót eredményezhet. A HR hiányos működése, illetve a NHEJ fokozott működése súlyos megbetegedésekhez vezethet. A HR és a NHEJ tanulmányozása fontos ezen betegségek gyógy módjának kidolgozásához. Emellett egy transzgén pontos integrációját a HR, random integrációját a NHEJ befolyásolja. Így ezen folyamatok megértése lehetővé teheti, hogy a sejtben egymással kompetáló HR és NHEJ folyamatokat eltoljuk az egyik irányba. Így például a HR előtérbe szorításával megnövelhetnénk a géniűtés sikerességét és a génterápiás eljárások hatékonyságát. A HR és a NHEJ folyamatok szabályozásának vizsgálatához azonban még nem áll rendelkezésre olyan rendszer, amely a két folyamatot egy időben tudná mérni.

Célunk egy olyan sejt vonal előállítás, amely kísérleti riporter rendszerként alkalmas a HR és a NHEJ arányának mérésére *in vivo* humán sejtekben. E sejt vonal elkészültével célunk a létrehozott rendszer tesztelése már ismert HR-t és NHEJ-t befolyásoló gének illetve még nem jellemzett DNS hibajavító gének hatásának vizsgálatával.

Hosszú távú tervünk, hogy a kialakított tesztrendszerrel nyert adatok alapján a HR-t és NHEJ-t befolyásoló gének expressziójának változtatásával képesek legyünk a HR növelése mellett sikeresen visszaszorítani az NHEJ-t. Az új ismereteket a homológ rekombináción alapuló génterápiás eljárások hatékonyságának növelésére kívánjuk használni.

Sikeresen elkészítettük a HR és a NHEJ detektálására alkalmas plazmidkonstrukciót, valamint ezt a DNS konstrukciót stabilan hordozó HeLa sejt vonalat, a HIREs10-et. E sejt vonal a máig leírt rendszerekhez képest magasabb alap homológ rekombinációs frekvenciát mutat. A HIREs10 sejt vonalat teszteltük olyan gének siRNS-sel történő csendesítésével, amelyekről már bebizonyosodott, hogy csökkent expressziójuk hatással van a HR-s frekvenciára.

Emellett rendszerünk segítségével újabb szereplőket azonosítottunk, amelyek feladatot töltenek be ezen mechanizmusok szabályozásában.

Gen_1

Az Aujeszky-féle vírus genom transzkripció analízise

Nagy Viktória
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Boldogkői Zsolt; Tombác Dóra

A herpeszvírus gének a transzkripció kinetika, valamint más géntermékektől való függésük alapján 3 fő csoportra oszthatók: azonnali korai (IE; immediate early), korai (E; early) és kései (L; late).

Munkánk során egy α -herpeszvírus, az Aujeszky-féle vírus (AyV) transzkriptom expresszió kinetikáját vizsgáltuk kvantitatív Real-Time RT-PCR technikával. PK-15 sejteket fertőztünk AyV-vel, a sejtekből totál RNS-t tisztítottunk 1, 2, 4, 6, illetve 8 órával a fertőzés után, s meghatároztuk a gének kinetikai osztályait. A korai génekkel ellentétben a késeiek transzkripciója a vírus DNS-polimeráz aktivitásától függ, ezért azonosításukhoz a AyV géneket PAA-val (a vírus DNS replikációt blokkoló nukleotid-analóg) kezelt sejteken is vizsgáltuk. Az IE gének transzkripciója független a de novo proteinszintézistől, ezért ezek vizsgálata végett a fehérjeszintézist gátló cikloheximiddel (CHX) kezelt, AyV-vel fertőzött sejtekből izolált RNS-sel is dolgoztunk.

A reverz transzkripció szálspecifikus primerekkel, Superscript III enzimmel történt. A cDNS-ek amplifikálásához Rotor-Gene 6000 Real-Time PCR készüléket, a nukleinsavak detekciójához SYBRGreen interkalálódó (a duplaszálú DNS kis árkába köt), fluoreszcens festéket használtunk. A PCR reakciók végén olvadáspont-analízissel és akrilamid-gélelektroforézissel ellenőriztük az amplifikált termékeket. Adataink kiértékelése a Souaze és munkatársai által kidolgozott relatív kópiaszám meghatározással történt.

Munkánk jelentősége, hogy a teljes vírusgenom expresszióját megvizsgáltuk, s ehhez olyan módszert alkalmaztunk, melyet az α -herpeszvírusok transzkripció analíziséhez eddig nem használtak.

Megállapítottuk, hogy az összes AyV gén minden időpontban kifejeződik, a kérdés csak az expresszió mértéke. Kimutattuk, hogy minden gén komplementer szála leiródik, antiszensz RNS-eket képezvén.

Gen_1

Egy autofág fehérje::riporter konstrukció, a GFP::LGG-1 expressziós mintázatának jellemzése a *Caenorhabditis elegans* embrionális fejlődése során

Pásti Gabriella

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Kovács Attila Lajos, Dr. Vellai Tibor

A makroautofágia az eukarióta sejtek növekedésében, az egyedfejlődésben, és számos patológiás folyamatban szereplő ősi lizoszomális önemésztő folyamat. Lényege, hogy a sejt citoplazmájának egy részét izoláló membránnal veszi körül, az így keletkezett kompartmentum (autofagoszóma) lizoszómával egyesülve autolizoszómává alakul, ahol tartalma lebomlik. A lebontott termék így újra felhasználhatóvá válik. Az élesztő ATG8 gén terméke kulcsszerepet játszik az autofagoszóma képződésében. A GFP::Atg8 fúziós fehérje széles körben használt autofagoszóma marker. A fenti gén ortológja a fonálféreg *Caenorhabditis elegans*-ban az lgg-1. Előállítottuk a *C. elegans* gfp::lgg-1 fúziós gén integrált változatát hordozó törzset. A GFP::LGG-1 fehérje expressziós mintázatát az irodalomban elsőként tanulmányoztuk a *C. elegans* embrionális fejlődése során, vad típusú, Atg1/unc-51 mutáns és embrionális letalitást okozó genetikai háttérben.

Vad típusú és unc-51 mutáns állatokban a jelölés jól reprodukálható, jellegzetes mintázatot mutat. A GFP::LGG-1 kezdetben minden sejtre kiterjedő homogén diffúz módon expresszálódik. Később granuláris jelölődés is megfigyelhető, ami várhatóan autofagoszóma struktúrát jelöl. Annak eldöntésére, hogy a GFP-pozitív granulumok lizoszomális természetűek-e, LysoTracker-Red festést végeztünk. Az esetek többségében nem látszik kolokalizáció a két jelölés között. Így kérdéses a GFP-pozitív granuláris jelölés és autolizoszomális aktivitás direkt kapcsolata. Konfokális mikroszkóppal végzett vizsgálataink során a granulumok tömör szerkezetűnek bizonyultak, eltérően az autofagoszómák esetén várható üreges, vakuoláris megjelenéstől. Ezen túlmenően az eddigi elektronmikroszkópos megfigyeléseink arra utalnak, hogy bizonyos karakterisztikus GFP-pozitív területek hipertrófiás Golgi régióknak felelnek meg, ami az lgg-1 gén eddig ismeretlen funkcióját jelzi a Golgi működésében. A sejthalált indukáló 5FU (5-fluorouracil) kezelés következtében elpusztuló embriók fénymikroszkópos expressziós mintázatára a granuláris jelölés hiánya és overexpresszált háttérjelölés jellemző. Mindemellett ultrastrukturálisan a nekrotikus és az apoptotikus aktivitáson túl autofágia is megfigyelhető bennük.

További elektronmikroszkópos és immuncitokémiai vizsgálataink célja annak eldöntése, hogy a GFP-pozitív granulumok vajon a *C. elegans*-ban zajló autofágiát, vagy egyéb folyamatokat jeleznek-e. Továbbá célunk annak tisztázása, hogy az lgg-1 gén csendesítése során milyen mértékű az lgg-1 expresszió csökkenése. Az RNS interferencia kezelt embriók fény- és elektronmikroszkópos vizsgálata további adatokat nyújthat az lgg-1 autofágiában illetve egyéb, nem autofág folyamatokban betöltött esetleges funkcióit illetően.

Gen_1

Az UbcD6 gén genetikai és molekuláris sejtbiológiai elemzése

Téglás Tímea
Nyíregyházi Főiskola, Biológia BSc szak

Témavezető: Dr. Máthé Endre

A sejtciklus egy bonyolult összhangolt, és szigorúan szabályozott folyamatok összessége, melyeket enzimek katalizálnak. Ezeknél a folyamatoknál meghatározott fontosságú, hogy az adott fehérjéből éppen milyen mennyiségű található a sejtben. Nem csak a fehérjék születése, hanem degradációja is nagymértékben hozzájárul az egyensúly fenntartásához. A fehérjék elbontása a proteasómában történik, mely egy alegységekből álló fehérje komplex. A sejtciklusban található checkpoint rendszerek működését az ubiquitin enzim határozza meg, mely 79 aminosavból áll, evolúciósan konzervált fehérje. Ahhoz, hogy az ubiquitin hozzákapcsolódjon a szubsztráthoz, 3 enzim segítsége szükséges:

- E1 enzim = ubiquitin aktiváló enzim
- E2 enzim = ubiquitin konjugáló enzim (Az E1 segítségével felaktivált ubiquitin átkerül erre az enzimre, majd ez tudja tovább adni az ubiquitint a lebontandó fehérjének)
- E3 enzim = ubiquitin ligáz (Ez ismeri fel a lebontandó fehérjét. A lebontandó fehérjének egy specifikus szekvenciával kell rendelkeznie ahhoz, hogy az ubiquitin hozzákötődhessen)

Tehát egy három fehérjéből álló enzimrendszer az ubiquitint C-terminálisán át kovalensen egy célfehérje lizin oldalláncához kapcsolja, majd az első kapcsolt ubiquitinhez annak lizin oldallancán át további ubiquitinek kapcsolódnak poliubiquitin láncot létrehozva, mintegy bélyegként megjelölve a célfehérjét. Ez jelzésként szolgál a proteasóma számára a fehérje lebontására. Az így megjelölt fehérje élettideje kevesebb, mint fél perc.

Egy fehérjét kódoló gén az UbcD6 is, melyet kevésbé ismernek, de az eddigi bioinformatikai és egyéb kutatások bebizonyították, hogy egy olyan E2 enzimről van szó, mely különösen meghatározó a checkpoint rendszerek működésében. Céloomul kitűztem az UbcD6 gén pontosabb működésének és szerepének feltárását különböző Gal4 törzsekkel, valamint a gén két RNS interferenciás törzsével való keresztezések segítségével, funkcionyeréses és funkcióvesztéses mutációkat indukálva. A génexpresszió szabályozását az enhancerek és a silencerek végzik. A silencerek csökkentik a gének kifejeződésének mértékét. A Gal4 törzsekkel történő keresztezések során vizsgálom a génkifejeződés körülményeit és okait *Drosophila melanogaster*-ben az UbcD6 gén elnyomásával, illetve felerősítésével a sejtekben.

Gen_1

**A humán akrocentrikus kromoszómák rövid karján lévő
szegmentális duplikációk vizsgálata**

Tóth Anna
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Cserpán Imre, Dr. Maróy Péter

A Humán Genom Projektből az akrocentrikus kromoszómák rövid karjai, valamint a többi kromoszóma centromerikus régiói maradtak ki, a nagy kiterjedésű és nehezen vizsgálható heterokromatikus régiók jelenléte miatt. Az akrocentrikus rövid karok (13p, 14p, 15p, 21p, 22p) bizonyítottan főleg szatellitkből (I-es, II-es, III-as, β -szatellit) és más ismétlődő szekvenciák (pl.: rDNS) családjaiból állnak. Néhány főemlőshöz hasonlóan az emberi genomban is több, nagyméretű és nagymértékben homológ szegmentális duplikáció van jelen. Ebbe a csoportba tartozik az általam vizsgált chAB4, amely alacsony kópiaszámú ismétlődés (LCR) része, így referenciapontként használható a rövid kar térképezéséhez.

Olyan kromoszómakar-specifikus szekvenciák izolálását és jellemzését tűztem ki célul, amelyek felhasználhatók az akrocentrikus rövid karok részletes térképezésében. Munkám során olyan humán+rágcsáló sejtvonalatokat használtam, amelyek egyetlen (13, 15), illetve kettő (21.+22.) humán akrocentrikus kromoszómát tartalmaztak. A chAB4 variánsok elkülönítésével és összehasonlításával a chAB4 LCR család evolúciójának megértése volt a célom. Az in situ hibridizációs vizsgálatokban jól látható konfigurációt - mely szerint az akrocentrikus rövid karokon a chAB4 kópiák az rDNS mindkét oldalán megtalálhatók - molekuláris szinten is igazolni kívántam. Figyelembe vettem, hogy két akrocentrikus kromoszóma rövid karján lévő DNS szakaszok között rekombináció mehet végbe, s ezért a centromer és az rDNS valamint az rDNS és a telomer közötti részek homogenizálódhatnak.

A vizsgált akrocentrikus kromoszómák rövid karjainak mindegyikén megtaláltuk a 15-ös kromoszómáról izolált szekvenciavariánsok nagyon közeli rokonait. A 15p-eredetű homológok megléte arra enged következtetni, hogy az akrocentrikus kromoszómák rövid karja az rDNS clusterben, illetve annak környékén rekombinációs események eredményeként homogenizálódott.

Genetika II. tagozat

Időpont: Április 9. 15:00

Terem: N épület, 111. terem

A zsűri elnöke: **Prof. Putnok Péter**, tanszékvezető egyetemi tanár
Pécsi Tudományegyetem, Genetikai és Molekuláris
Biológiai Tanszék

tagjai: **Dr. Hoffmann Borbála**, egyetemi docens
Pannon Egyetem, Növénytudományi és Biotechnológiai
Tanszék

Dr. Vellai Tibor, tanszékvezető egyetemi docens
Eötvös Loránd Tudományegyetem, Genetikai Tanszék

15:00	Bencsura Petra	SZTE TTIK	Evolúciós vizsgálatok <i>Medicago</i> fajok Rps13 géncsaládján
15:20	Grózer Zsuzsanna Barbara	SZTE TTIK	A serdülőkori gerincferdülés kialakításában szerepet játszó SNP-k azonosítása
15:40	Halmi Miklós	SZTE TTIK	A PCNA szerepe a mutagenézisben
16:00	Hudoba Liza	SZTE TTIK	Antimikrobiális peptidok palindrom szekvenciáinak szerkezetvizsgálata molekuladinamikai módszerekkel
16:20	Lőrincz Péter, Maruzs Tamás	ELTE TTK	Mitől nem döglök a légy? Az autofágia és a matuzsálem
16:40	Szünet		
16:50	Pap Bernadett	SZTE TTIK	A szulfanilsav lebontásában szerepet játszó gének szabályozó régióinak vizsgálata <i>Sphingomonas subarctica</i> SA1 törzsben
17:10	Papp Annamária	DE TTK	Célzott mutációval új enzimaktivitás létrehozása bakteriális béta- mannozidázon
17:30	Tax Gábor	SZTE TTIK	A TNF-alfa gén szabályozó régiójában található polimorfizmusok szerepe az <i>acne vulgaris</i> patogenezisében
17:50	Zákány Nóra	DE TTK	Szekszárdi Kadarka élesztőbiótájának vizsgálata

Gen_2

Evolúciós vizsgálatok *Medicago* fajok *Rps13* géncsaládján

Bencsura Petra
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Endre Gabriella, Prof. Maróy Péter

Genom-összehasonlító kísérleteinkben a lucerna (*Medicago sativa*) *RPS13* riboszómális fehérjét kódoló génnek szekvenciáját, genomi elhelyezkedését és környezetét hasonlítjuk a közeli rokon, *Medicago truncatula* modellnövényéhez.

Korábban az L408 jelű DNS próbával végzett hibridizációkban az RFLP polimorfizmusok alapján az *Rps13* gén két térképhelyét azonosítottuk a *M. sativa* 2. és 4. kapcsoltsági csoportján (LG2 és LG4). Genotipizálás során derült ki, hogy az egyik F2 egyedben az egyik lókus (L408BD, LG2) deléció szenvedett, ugyanakkor nem mutatott fenotipikus elváltozást. Ezen deléció felderítésére a közeli rokon pillangós virágú modellnövény, a *M. truncatula* genomi DNS-ből készült BAC könyvtárát és az adatbankokban elérhető szekvencia információkat használtuk fel először. A kapott adatokból kiderült, hogy míg a *M. truncatula* növényben az *Rps13* génnek az LG4-es lókusza a *M. sativa*-hoz hasonló helyen van, addig az LG2 csoporton lévő lókus hiányzik. Ezért a *M. sativa* LG2-es génekopia és környezetének megismeréséhez az időközben elkészült *M. sativa* BAC könyvtárát használtuk. A két alfaj (*M. sativa* ssp. *coerulea*, *M. sativa* ssp. *quasifalcata*) alléljait hordozó BAC klónok szekvencia analizéséből kiderült, hogy az LG2 csoporton az *Rps13* gén kódoló régióinak csak egy töredéke található meg. Ebből arra következtettünk, hogy a *M. sativa*-ban ez a génekopia egy mRNS molekula visszaépülése során keletkezett, és valószínűleg nem funkcionáló gén. Ugyanakkor a meglévő *M. truncatula* genom adatok rávilágítottak, hogy két másik lókuszon (LG5, LG8) a gén két további kópiája is megtalálható, ennek tükrében érdekesnek tűnt e gének evolúciós viselkedésének tanulmányozása a két *Medicago* fajban.

Ezen evolúciós szintű vizsgálatainkhoz először a *M. truncatula* és *M. sativa* LG4-es *Rps13* génekopiák és környezetük összehasonlítását végeztük el. Ehhez specifikus primerekkel azonosítottuk azt a két *M. sativa* BAC klónt, amelyek a már említett két alfajnak megfelelő LG4 *Rps13* gén alléljait hordozzák. Ezen BAC klónokat szubklónoztuk, és az *Rps13* gént hordozókat szekvenáltuk. A kapott *M. sativa* szekvenciákból egy egységes kontigot állítottunk össze a két alfajra, mely lefedi a teljes *Rps13* gént és annak környező régióira is kiterjed. A teljes genomi régió összeállításakor érdekes intronbeli különbségeket találtunk, amelyek magyarázhatják a *M. sativa* LG2-es töredék kópia megjelenését is. Kísérleti eredményeinket bővítettük a *M. truncatula*-ban található két további *Rps13* génnel (LG5, LG8), amely szekvencia információkból a tágabb géncsalád evolúciójáról is képet alkothatunk.

Gen_2

**A serdülőkori gerincferdülés kialakításában szerepet játszó SNP-k
azonosítása**

*Grózer Zsuzsanna Barbara
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak*

Témavezetők: Dr. Raskó István, Mórocz Mónika, Dr. Maróy Péter

Az adolescens idiopathias scoliosis, (AIS, serdülőkori ismeretlen eredetű gerincferdülés) más betegséghez nem köthető, 3 dimenziós gerincdeformitás. A görbületet egy kisebb vagy nagyobb kiterjedésű törzseyenlőtlenség vagy aszimmetrikus „borda púp” kíséri. Az elváltozások elviselése pszichológiai problémákat okozhat, korlátozza a munkavállalási képességet és egyes esetekben akár tüdőleépülést is okozhat.

Ikervizsgálatok kimutatták, hogy az egypetűjű ikreknél az együttes előfordulás 75%-os, kétpetűjűeknél 36%-os. Rokonsági vizsgálatok igazolták, hogy az elsőfokú rokonok 11%-ban érintettek, másod és harmadfokú rokonok pedig 2.4% illetve 1.4%-ban. Ezek a vizsgálatok alátámasztják a deformitás genetikai eredetét. A jelenleg elfogadott etiológiai modell alapján a betegség kialakulása két szakaszra osztható: iniciációs és progressziós fázisokra. Mindkét fázis kialakulásában szerepet játszanak eddig ismeretlen környezeti faktorok, valamint előbbiben számos iniciáló/prediszponáló gén, utóbbiban a betegséget módosító azaz progressziós gén vagy gének hatnak. Ezek alapján jelenleg AIS-t a komplex genetikai betegségek közé sorolják.

Az általunk is alkalmazott ún. asszociációs vizsgálat, mely kandidáns gén megközelítést használ és statisztikai korrelációt keres a különböző gén variánsok és a betegség között, napjainkban általánosan alkalmazott módszer a komplex betegségek vizsgálatára. A módszer a betegségekkel kapcsolatba hozható génekben jelenlévő SNP-k (egypontos nukleotid polimorfizmusok) vizsgálatán alapszik, melyekkel azonosíthatók a hajlamosító gének és allél variánsok és egy adott személy SNP mintázata alapján lehetővé válhat a hajlam, illetve a betegség korai felismerése és a személyre szabott gyógyászat.

Az AIS kialakításában szerepet játszó hajlamosító gének azonosítását célul kitűzve eddig 2 gén nukleotid polimorfizmusát (SNP) vizsgáltuk PCR RFLP módszerrel egy eset-kontroll vizsgálat során. A betegek és kontrollok DNS-ét allélspecifikus restrikciós hasítóhelyet tartalmazó primerekkel amplifikáltuk, majd az allélok restrikciós emésztést követő gélelektroforézissel azonosítottuk. A folyamatban lévő vizsgálatunk során elsőként a melatonin 1B receptor (MTNR1B) gén, szakirodalom szerint hajlamosító gén, promoterében lévő (rs4753426) C/T polimorfizmust vizsgáltuk. A vizsgálataink alapján CC genotípus a kontroll csoportban kétszeres előfordulást mutatott a beteg csoporthoz képest, ami alapján a C allél protektív szerepét feltételezzük az MTNR1B és az AIS kapcsolatában. A második vizsgált SNP a bone morphogenetic protein 4 (BMP4) gén promoterében lévő (rs 4898820) G/T polimorfizmus volt. Az allélok gyakorisága nem tért el szignifikánsan a két csoportban, tehát ez a polimorfizmus nem hajlamosító az AIS-ra.

Gen_2

A PCNA szerepe a mutagenézisben

Halmai Miklós

Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Unk Ildikó

Sejtjeink alapvető feladata a DNS információ tartalmának megőrzése. A környezeti, illetve metabolikus eredetű károsító hatások viszont a DNS szerkezetében változásokat, hibákat hoznak létre. Az evolúció folyamán DNS reparációs útvonalak alakultak ki, melyek a hibákat kijavítják, illetve hiba tolerancia útvonalak, melyek a hiba kijavítása nélkül biztosítják a sejtciklus és replikáció működését. A DNS hiba tolerancia útvonalak egyike a RAD6/RAD18 fehérjék által szabályozott útvonal, amely a DNS hibáknál megakadt replikációs villa továbbhaladását teszi lehetővé. Az említett útvonal a toleranciát kétféleképpen: mutagén, illetve hibamentes módon biztosíthatja.

A PCNA fehérje az a szereplő, amely koordinálja a hibamentes, illetve mutagén hiba-átírás szabályozását. A hiba-átírás aktiválásához a PCNA fehérjének a Rad6/RAD18 ubiquitin ligáló-konjugáló komplex által ubiquitinálódnia kell. A mutagén útvonal működéséhez monoubiquitinálódásra van szükség, míg a poliubiquitinált forma aktiválja a hibamentes átírási utat.

A mechanizmus, mellyel az ubiquitinált PCNA szabályozza az egyes útvonalak működését, az intenzív kutatások ellenére sem ismert. A szabályozási folyamatok mélyebb megértésének céljával az élesztő PCNA génjén irányított mutagenézissel pontmutációkat hoztam létre. A mutációk helyét a PCNA kristályszerkezetének, illetve az irodalomban leírt más PCNA mutánsok fenotípusának figyelembe vételével határoztam meg.

Az előállított törzseket élesztőgenetikai módszerekkel jellemeztem. Sikertelenül olyan mutánsokat létrehozni, melyek reparációs útvonalak működését befolyásolták, és olyanokat is, amelyek a RAD6/RAD18 útvonal működését érintették. Egy olyan pontmutánst is előállítottam, amelyben különös módon a DNS hiba tolerancia útvonal egyes résztvevői a RAD6/RAD18 komplex ellenőrzése alól kikerülve működnek. Az irodalomban ilyen fenotípus eddig még nem ismert.

A mutáns genetikai és biokémiai jellemzésével kapott eredményeim hozzásegíthetnek a mutagenézishez vezető és az azt elkerülő folyamatok szabályozásának megértéséhez.

Gen_2

Antimikrobiális peptidok palindrom szekvenciáinak szerkezetvizsgálata molekuladinamikai módszerekkel

Hudoba Liza

Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Leitgeb Balázs, Dr. Rákhely Gábor

Számos antimikrobiális peptid esetén megfigyelhetők hosszabb-rövidebb palindrom szekvenciaszakaszok, amelyek nemcsak a térszerkezet kialakításában játszanak fontos szerepet, hanem ezen molekulák biológiai hatása szempontjából is nagy jelentőséggel bírnak. A palindrom szekvenciával rendelkező antimikrobiális peptidok közé tartozik az *Oreumenes decoratus* darázsfaj mérgéből izolált decoralin (H-SLLSLIRKLIT-OH), a *Rana temporaria* békafaj bőrében található temporin C (H-LLPILGNLLNGLL-NH₂), a *Rana dybowskii* békafaj bőrében előforduló temporin 1DYa (H-FIGPIISALASLFG-NH₂), a szarvasmarha neutrofil granulocitáiból izolált indolicidin (H-ILPWKWPWWPWR-NH₂), valamint a sertés csontvelő vizsgálata során azonosított tritripticin (H-VRRFPWWPFLRR-OH).

A fent említett antimikrobiális peptidok palindrom szekvenciáinak szerkezetvizsgálatát végeztük el molekuladinamikai módszerek alkalmazásával. A számításokat terminálisan védett szekvenciákon hajtottuk végre, ahol az N-terminális vég esetén acetil-csoportot, míg a C-terminális vég esetében amid-csoportot használtunk. Mivel az indolicidin és a tritripticin palindrom szekvenciája két Pro aminosavat tartalmaz, és mindkét molekula Xaa-Pro peptidkötéseinél fellép a cisz-transz izoméria, így ezen peptidok négy-négy izomerét külön-külön modelleztük. Az összes palindrom szekvencia esetén egy részletes konformáció-analízist végeztünk el a szimulált anelláció (SA) módszerének alkalmazásával. Az SA számításokból kapott konformerek esetében megvizsgáltuk az előforduló karakterisztikus másodlagos szerkezeti elemeket, amely során különböző típusú turn struktúrákat, valamint eltérő hosszúságú különféle helikális szerkezeteket azonosítottunk. Emellett meghatároztuk azokat az intramolekuláris kölcsönhatásokat (H-kötések, aromás-aromás és prolin-aromás kölcsönhatások), amelyek fontos szerepet játszanak a palindrom szekvenciák másodlagos szerkezeti elemeinek, illetve különböző konformációs állapotainak kialakításában és stabilizálásában. A decoralin, a temporin C és a temporin 1DYa peptidok palindrom szekvenciái esetén molekuladinamikai (MD) szimulációkat is végeztünk, amelyek során a térszerkezeti tulajdonságok időbeni változásait tanulmányoztuk.

Mindhárom peptid esetében több egymástól független MD számítást hajtottuk végre, amelyeknél a kiindulási nyújtott molekulagerinccel rendelkező szerkezethez minden esetben más-más random sebességeket adtunk meg. Az MD trajektóriák analizisével megvizsgáltuk, hogy milyen karakterisztikus szerkezetek alakulnak ki az MD szimulációk során, illetve meghatároztuk, hogy ezek a struktúrák milyen másodlagos szerkezeti elemekkel és intramolekuláris H-kötés mintázatokkal jellemezhetők.

Gen_2

Mitől nem döglök a légy? Az autofágia és a matuzsálem

Lőrincz Péter, Maruzs Tamás
Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Csikós György

Az autofágia az eukarióták egy olyan, erősen konzervált sejtbiológiai folyamata, melynek során a sejt a saját anyagait lizoszómák segítségével bontja le. A folyamat normális működése elengedhetetlen a sejt homeosztázisának fennmaradásához például éhezéskor, vagy stresszre adott válasz során. A felesleges sejteket a fejlődő szervezet intenzív autofágiával távolítja el, ezért a folyamat jól tanulmányozható a holometabola rovarok metamorfóziskor lebomló lárvális szöveteiben.

Munkahipotézisünk szerint, ha ez időpont előtt egy gén overexpressziója autofág struktúrák megjelenését idézi elő, akkor erősen valószínűsíthető, hogy a gén részt vesz az autofágia szabályozásában. Erre a célra különösen alkalmasak az általunk tesztelt, genomjukban különböző pontokon, homozigóta formában DEP-elemet hordozó *Drosophila* vonalak. A DEP-elem egy módosított transzpozon, amely mindkét végén ellentétes irányultságú UAS-repeateket tartalmaz, így Gal4 jelenlétében az inzerciós ponttól mindkét irányban lévő két szomszédos gén overexpresszáható. Ez magában rejti a lehetőséget, hogy az eddig főleg funkcióvesztéses fenotípuson alapuló tesztek során rejtve maradt, új autofágiát szabályozó géneket azonosítsunk.

A tesztelt 45 törzsből 3 esetében a lárvák zsírtestében autofágiára utaló, Lysotracker-pozitív granulomok megjelenését tapasztaltuk. Ezekben a vonalakban inverz-PCR-rel meghatároztuk a transzpozon helyét és az aktiválható géneket. Mivel a DEP-ben található egyik UAS-repeatet az Flp, míg a másikat a Cre rekombináz felismerő szekvenciái határolják, a DEP-t hordozó vonalakat a megfelelő rekombináz enzimeket expresszáló transzgénikus muslicákkal keresztezve az egyik, ill. másik UAS-t szelektíven eltávolítottuk. Az így kapott vonalak vizsgálata során megállapítottuk, hogy a fenotípust a methuselah (mth) gén overexpressziója idézte elő. Ezt ELMI-s vizsgálatokkal és szemikvantitatív RT-PCR-rel is igazoltuk. Az mth kölcsönható partnerének, a stunted-nak az overexpressziója szintén Lysotracker-pozitív granuláció megjelenését idézte elő, megerősítve feltételezésünket, hogy az mth autofág folyamatok szabályozásában vesz részt. Kimutattuk, hogy az mth overexpressziója élethossznövekedéshez vezet. A hatásmechanizmus tisztázására az mth hipomorf mutáns vonalait is vizsgáltuk, melyeknek zsírtestében szintén megtaláltuk a fokozott autofágiára utaló jeleket.

A 7TM receptort kódoló mth funkcióvesztéses mutációja növeli a stresszorokkal szembeni ellenálló képességet, valamint az élethosszt. Eredményeink alapján feltételezzük, hogy a funkcióképes Mth az autofágiát gátolja, míg mutációja, ill. domináns-negatív fenotípust okozó overexpressziója az autofágiára kifejtett közvetett gátlást feloldják, előidézve a tapasztalt autofág fenotípust.

Gen_2

A szulfanilsav lebontásában szerepet játszó gének szabályozó régióinak vizsgálata *Sphingomonas subarctica* SA1 törzsben

Pap Bernadett

Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Rákhely Gábor

Laborunkban korábban izoláltak a Nitrokémia Rt. területéről egy szulfanilsavat egyedülálló módon, egyedüli szén-, nitrogén- és kénforrásként hasznosító baktériumot. Taxonómiai vizsgálatok alapján ez a baktérium a *Sphingomonas subarctica* NKF1 törzssel mutatott 100% homológiát. Az NKF1 törzs képes a klórozott szénhidrogének lebontására, azonban az izolált törzssel ellentétben nem képes a szulfanilsav bontására. Ezért az izolált törzset eltérő biodegradációs képessége miatt *Sphingomonas subarctica* SA1-nek nevezték el.

Proteomikai vizsgálatokkal sikerült azonosítani a szulfanilsav lebontásában szerepet játszó géneket.

A szulfanilsav lebontásának első köztterméke a 4-szulfokatekol, amely egy enzimrendszer segítségével maleilacetáttá alakul és végül a folyamat a TCA ciklusba torkollik. A folyamatban részt vevő enzimek génjeit két genomi lókuszban azonosították. A 4-szulfokatekol – maleilacetát konverzióban résztvevő fehérjék (a szulfomukonát cikloizomeráz, a szulfolakton hidroláz, a maleilacetát redukáz, a szulfokatekol dioxigenáz illetve egy permeáz) génjei (scaA-F) egymás mellett helyezkednek el a genomban.

Egy másik lókuszban azonosítottak egy aminosztransferázt (atr) és egy gyűrű hidroxiláló dioxigenázt (srh) kódoló gént. Ezen gének termékei feltehetőleg a lebontás első lépését, a szulfanilsav 4-szulfokatekollá alakítását katalizálják. Fehérjevizsgálatok alapján valószínűsíthető, hogy az előbbi génklaszterben szereplő scaD oxidoreduktáz is ebben a katalitikus folyamatban vesz részt.

A szulfanilsav lebontás első lépésében résztvevő fehérjék szerepének tisztázásához egyrészt szükséges a résztvevő fehérjék génjeinek expressziós szabályozásának jellemzése, valamint olyan expressziós konstrukció létrehozása, amely segítségével fehérje-fehérje kölcsönhatásokat tudunk tanulmányozni. Ez utóbbi egy a *Sphingomonas subarctica*-ban megbízhatóan működő, stabil genetikai rendszer kidolgozását igényli.

Munkám célja az scaA és scaE gének előtti, számítógépes modell alapján feltételezett promóterek meglétének, vagy hiányának bizonyítása. Vizsgálataimat a pPROBE NT- promóter próba vektorral végeztem, amely gfp riporter gént hordoz. A feltételezett promótert tartalmazó szekvencia részletet klónoztam a pPROBE NT- vektor gfp riporter génje elé. Sikeresen beállítottam egy elektroporációs eljárást DNS bevitelére, majd a konstrukciót sikeresen bejutattam *Sphingomonas subarctica* SA1 sejtekbe. Ha a vizsgált szekvencia valóban rendelkezik promóter aktivitással, akkor GFP fehérjét fluoriméterrel tudjuk detektálni, mérni.

Gen_2

Célzott mutációval új enzimaktivitás létrehozása bakteriális béta-mannozidázon

Papp Annamária
Debreceni Egyetem, Biotechnológus szak

Témavezető: Dr. Barna Teréz

Thermobifida fusca gram-pozitív, komposzt- és talajlakó baktérium, amely széles spektrumú celluláz és hemicelluláz enzimrendszerrel rendelkezik. Ebből a glikozil hidrolázok 2-es csoportjába tartozó béta-1,4-D-mannozidáz enzim célzott mutagenézisét tűztük ki célul, hogy kiiktassuk az enzim hidrolitikus aktivitását, és egyúttal kialakítsuk béta-mannozil transzferáz aktivitást, amellyel lehetővé válik béta-mannozil származékok kemoenzimatikus szintézise. Az így előállított mannooligoszacharidok alkalmasak lehetnek patogén szervezetek sejt felszíni receptorainak felismerésére, illetve blokkolására.

A béta-mannozidos kötés elhasításában kulcs szerepet játszó nukleofil aminosavat azonosítottuk szerkezeti, valamint aminosav szekvencia homológia alapján. Az 530-as helyzetű nukleofil Glu-t pontmutációval kicseréltük Ser-re és az így előállított béta-1,4-D-mannozidáz mutáns enzimet biokémiaiailag jellemeztük. A mutáns enzim béta-mannozidáz aktivitását sikerült megszüntetnünk és jelentős béta-mannozil transzferáz aktivitást elértünk. Az E530S béta-mannozidáz mutáns enzim szűk donor szubsztrátspecifitást, míg széles akceptor szubsztrátspecifitást mutatott. A transzferáz aktivitás béta-mannopiranozid tartalmú akceptor és alfa-D-mannopiranozilfluorid donor esetén optimalizáltuk és 72%-os konverziót értünk el. A keletkező termékek részletes szerkezetvizsgálata feltárta, hogy a mutáns enzim egyedi béta-1,3-as mannozidos kötés kialakítására képes. Az irodalomban ez ideig nem azonosítottak béta-1,3-mannozidos kötés kialakítására képes enzimet, habár természetes oligoszacharidokban így a *Shigella boydii* vérhast okozó baktérium O-specifikus lipopoliszacharid ismétlődő oligoszacharid egységében ez a kötés típus fordul elő.

A különböző akceptor molekulák tesztelése közben egy váratlan új hidrolitikus enzimaktivitást fedeztünk fel, amelynek révén az E530S béta-mannozidáz mutáns képes béta-glükuronidos kötés hasítására. A kapott eredmény azért is meglepő, mivel a vad típusú béta-mannozidáz nem rendelkezik ilyen aktivitással. A béta-glükuronidáz aktivitás kinetikai paraméterei azt mutatják, hogy az enzim jóval nagyobb affinitással bír a béta-glükuronil glikonhoz mint a vad típusú enzim a béta-mannopiranozil glikonhoz képest. Feltételezhető, hogy a mutáns enzim aktív centrumában olyan geometriai átrendeződés következett be, amelynek következtében egy más karboxil oldalláncú aminosav átvette a katalitikus nukleofil szerepét.

Gen_2

A TNF-alfa gén szabályozó régiójában található polimorfizmusok szerepe az acne vulgaris patogenezisében

Tax Gábor

Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Szabó Kornélia Ágnes, Dr. Boros Imre Miklós

Munkacsoportunk az acne vulgaris (pattanásos bőrbetegség) kialakulásában szerepet játszó tényezőket vizsgálja. Korábbi eredményeink megmutatták, hogy a *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) baktérium fokozza tenyésztett humán keratinocitákban a tumor nekrosis faktor alfa (TNF-alfa) kifejeződését, melynek szerepe lehet a gyulladásos folyamatok kiváltásában. Jelen munkánkban ezért a TNF-alfa gén szerepét vizsgáltuk az acne patogenezisében genetikai módszerekkel.

Ismert, hogy TNF-alfa gén szabályozó régiójában található polimorfizmusok (SNPk) szerepet játszhatnak a gén kifejeződésének szabályozásában, ezáltal fokozhatják az érintett egyének egyes krónikus gyulladásos megbetegedésekre való hajlamát. Munkánk során ezért öt SNP (-1031, -863, -857, -308, -238) előfordulási gyakoriságát vizsgáltuk acne vulgarisban szenvedő és kontroll személyek vérmintáinak felhasználásával.

A -1031, -863, és -238-as SNP-k esetében nem találtunk statisztikailag szignifikáns eltérést az egyes genotípusok előfordulási gyakoriságában a kontroll és az acnés csoportok között.

A TNF-alfa -308-as polimorfizmusánál sem kaptunk jelentős eltérést (χ^2 , $p=0,0919$), ha azonban a nemeket külön vizsgáltuk azt tapasztaltuk, hogy a nők esetében ez a különbség a statisztikai szignifikancia határán volt ($p=0,0581$).

A TNF-alfa -857-es polimorfizmusa esetében ezzel szemben jelentős növekedést tapasztaltunk a C allél előfordulási gyakoriságában az acnés csoportban (χ^2 , $p=0,00806$, $OR=2,008$). Irodalmi adatok azt mutatják, hogy a -857-es pozícióban a mutáns (T) allél olyan változásokat okoz a TNF-alfa gén szabályozó régiójában, melynek következtében egy új, OCT-1 transzkripciós faktor kötőhely alakul ki egy meglévő NF-kappaB kötőhely közvetlen szomszédságában, a TNF-alfa gén szabályozásának megváltozását eredményezve.

Eredményeink hozzájárulhatnak az acne patogenezisének jobb megértéséhez, és alapját képezhetik új terápiás eljárások kidolgozásának.

Gen_2

Szekszárdi Kadarka élesztőbiótájának vizsgálata

Zákány Nóra

Debreceni Egyetem, Molekuláris biológus szak

Témavezető: Dr. Csoma Hajnalka

Célunk, hogy több évjárat vizsgálata során feltérképezzük a Kadarka szőlőfajta mustjának természetes élesztőbiótáját és olyan élesztőfajokat válogassunk ki, melyek alkalmasak lehetnek fajélesztő készítmények előállítására. Ezen termékek egy adott élesztőfaj törzseinek (esetleg több faj) egysejt tenyészei, amelyeket különféle borvidékek mustjaiból, boraiból szelektáltak kiváló borászati tulajdonságaik alapján.

Munkánk során Szekszárdi Kadarka must 2 évjáratának élesztőbiótáját vizsgáltuk. Az erjedés folyamán 15 alkalommal mintáztuk mindkét tételt, melyek során élesztőtörzseket izoláltunk. Azonosításukhoz elsőként klasszikus faj-meghatározási módszereket alkalmaztunk. Ezen tesztek eredményei alapján választottunk ki olyan reprezentáns élesztőtörzseket, melyekkel molekuláris biológiai vizsgálatokat végeztünk el, továbbá pontosítva eredményeinket, szűkítve a lehetséges fajok listáját.

Mindezek alapján úgy véljük, hogy izolátumaink nagy valószínűséggel *Saccharomyces cerevisiae*, *Hanseniaspora uvarum*, *Candida zemplinina*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Aureobasidium pullulans* élesztőfajokhoz tartoznak. Az eredmények összesítéseként elmondható, hogy a vizsgált mustok élesztőflórájában az erjedés során a *Saccharomyces* törzsek töltöttek be domináns szerepet az erjedés előrehaladtával. A 2007-es évjáratnál a *Candida zemplinina* élesztőtörzseknek is jelentős szerep jutott.

Emellett elvégeztük a *Saccharomyces cerevisiae* izolátumok néhányának borászati tulajdonságának vizsgálatát starterszelekciós célból. A H₂S- és savtermelés, cukortolerancia mellett, végeztünk „killer” aktivitás, különböző tolerancia és enzimaktivitási, valamint mikrovinifikációs és gázkromatográfias kísérleteket.

Habár a törzsek javarésze érzékeny valamely killer toxinra és nem rendelkeznek extracelluláris enzimaktivitással (kivételem egy törzs) fermentációs rátájuk és a termelt aromakomponensek alapján érdemes lehet velük a későbbiekben nagyobb léptékű fermentációs kísérleteket végezni.

Hidrobiológia I. tagozat

Időpont: Április 9. 09:00

Terem: O épület, 6. terem

A zsűri elnöke: **Dr. Vörös Lajos**, tudományos tanácsadó
MTA Balatoni Limnológiai Kutatóintézet

tagjai: **Dr. Specziár András**, tudományos főmunkatárs
MTA Balatoni Limnológiai Kutatóintézet

Dr. Stenger-Kovács Csilla, egyetemi tanársegéd
Pannon Egyetem, Limnológia Intézeti Tanszék

09:00	Abonyi András	PE MK	Két Tisza-menti holtág rétegződési sajátosságai
09:20	Kovács Tamás Zoltán, Boda Réka	PTE TTK	Kisvízfolyások jellemzése a makrogerinctelenek szaprobitási, táplálkozásbiológiai és longitudinális elterjedési csoportjai alapján
09:40	Borza Péter	ELTE TTK	Inváziós halfajok táplálék-forrásfelosztása a Duna litorális zónájában: a feketeszájú géb (<i>Neogobius melanostomus</i>) és a Kessler-géb (<i>Neogobius kessleri</i>) összehasonlítása
10:00	Havasi Máté	PE MK	A <i>Bosmina longirostris</i> méret- és termékenységváltozása a Major-tóban
10:20	Keresztes Zsolt Gyula	BBTE	Huminanyagok fotolitikus bomlásának vizsgálata vízi környezetben
10:40	Szünet		
10:50	Kovács Etelka	SZTE TTIK	Marosból származó közönséges csuka (<i>Esox lucius</i>), fogassüllő (<i>Stizostedion lucioperca</i>), márna (<i>Barbus barbus</i>) és lesó harcsa (<i>Silurus glanis</i>) szöveteiben felhalmozódó nehézfémek vizsgálata
11:10	Selmeczy Géza	PE MK	A <i>Gammarus roeselii</i> (Gervais 1835) alaktanának felmérése országunk patakjaiban
11:30	Vad Csaba Ferenc	ELTE TTK	Az ócsai Öregturján különböző víztereknek hidrobiológiai állapotfelmérése kistrák együtteseik vizsgálatával

HidroBiol_1

Két Tisza-menti holtág rétegződési sajátosságai

Abonyi András
Pannon Egyetem, Környezettudományi szak

Témavezető: Dr. Padisák Judit

A szélességi körünkön elhelyezkedő mély tavak rétegződési sajátosságai jól ismertek, valamint az is, hogy a planktikus szervezetek nem homogénen helyezkednek el a vízoszlopban. Jóval kevesebb ismerettel rendelkezünk arról, hogy megfigyelhető-e ez a jelenség hazai állóvizeinkben. A Tisza középső és alsó szakasza mentén található holtágak jellemző morfológiai sajátossága, hogy mélységük hazai viszonylatban jelentős (6-10 m) lehet. Holtágaink átlagos mélységét tekintve nagyobbbrészt sekély tavak, azonban a kisebb felszínű szélvédett tavakon már a 3 m-t meghaladó vízmélység esetén is kialakulhat stabil rétegzettség.

A Szolnok melletti Alcsi-Holt-Tisza és a tiszadobi Malom-Tisza rétegződését és a fitoplankton vertikális eloszlását vizsgáltuk 2005-2007-ben. Az alábbi kérdésekre kerestük a választ:

- Milyen rétegződési sajátosságokat mutat a két holtág?
- Milyen jellegű a fitoplankton vertikális eloszlása?
- A különböző rétegekben melyek a domináns alga csoportok?

Holtágaink talán a legkézenfekvőbb példái a sekély, de funkcionálisan mély tavaknak. A Patalas által kidolgozott összefüggés ismeretében $S = z_{epi}/z_{max} < 0,5$ értékek mellett már stabil három réteg kialakulásával számolhatunk. Az Alcsi-Holt-Tisza, $S=0,6$ (nyári) értékével valamint relatív vízoszlop-stabilitás értékeivel dimiktikus jellegeket mutató, ugyanakkor hideg polimiktikus tónak tekinthető. Ezzel szemben a Malom-Tisza esetén, ahol az $S=0,3$, a nyári relatív vízoszlop-stabilitás értékek 380-425 körüliek, stabil rétegzettségről beszélhetünk. A Malom-Tiszát stabilitás értékei, valamint a nyári hipolimnetikus vízhőmérsékletének állandóságát figyelembe véve dimiktikus – meleg monomiktikus állóvíznek tekinthetjük. Mélysége mellett a holtág védettsége is elősegíti a stabil rétegződés kialakulását.

A Malom-Tiszában az eufotikus réteg fitoplanktonjának vertikális eloszlása is rétegződést mutatott. Különösen jól látszik ez júniusban a *Peridinium* spp. és a *Desmidiiales* fajok, míg szeptemberben a fonalas *Cyanobacteria* szervezetek esetében. Az Alcsi-Holt-Tisza fitoplankton eredményei azt mutatják, hogy mind motilis, mind nem-motilis szervezetek is jelentős vertikális különbségek kialakítására képesek sekély, gyakran keveredő állóvíz esetén is.

Vizsgálataink két Tisza-menti holtág példáján igazolták, hogy egyes hazai állóvizeink bizonyos fizikai és kémiai változói, valamint a fitoplankton eloszlása mély állóvizekre jellemző rétegződést mutatnak. Eredményeink azt mutatják, hogy felszíni vizek hidrobiológiai vizsgálata esetén a felszín közeli vízréteg mintázása nem elégséges, hanem a teljes vízoszlop vizsgálata szükséges.

HidroBiol_1

Kisvízfolyások jellemzése a makrogerinctelenek szaprobitási, táplálkozásbiológiai és longitudinális elterjedési csoportjai alapján

*Kovács Tamás Zoltán, Boda Réka
Pécsi Tudományegyetem, Környezettudományi szak*

Témavezetők: Dr. Csabai Zoltán, Dr. Móra Arnold

Európa szinten nagy az igény a felszíni vizek állapotának felmérésére, minőségének becslésére. Ennek alapjául szolgálhatnak a vizekben élő makrogerinctelenek. A csupán a fajkészlet alapján történő minősítés földrajzi régióként más és más eredményeket szolgáltathat. Ennek kiküszöbölésére szolgál a vízi élőlények autokológiájára alapozott funkcionális csoportok alapján történő minősítés. Ausztriában a vízminőség jellemzésére három funkcionális mutatócsoporton – szaprobiológiai, longitudinális elterjedési és táplálkozásbiológiai – alapuló rendszert dolgoztak ki.

Dolgozatunkban a Balaton vízgyűjtőjén található patakok állapotát jellemezzük e funkcionális mutatócsoportok alapján. Keressük a választ arra, hogy a különböző mutatók alapján kialakulnak-e a valóságnak (terepi tapasztalatoknak) megfelelő csoportok, valamint jelenléthiány adatok alapján is jellemezhetőek-e a vizek. 2006-2007-ben faunisztikai, 2008-ban mennyiségi (AQEM protokoll) mintavételezéssel vizsgáltuk 20 patakszakasz makrogerinctelen faunáját.

A Coleoptera, Heteroptera (BP) valamint Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera (EPT) csoportok alapján különböző típusú adatsorokat képeztünk, majd ezeket származtatott indexértékek segítségével is értékeltük. A különböző módszerrel, illetve évekből származó kvalitatív adatsorok összevetése során azt tapasztaltuk, hogy ezek hasonlóan jellemzik a vizeket. A kvantitatív és kvalitatív adatsorok összevetése esetében már markánsabb különbségek jelentkeztek, de a vizek csoportosulását kialakító főbb trendek azonosak voltak. A vizsgált vizek között mindhárom mutatócsoport alapján két, jól elkülönülő csoport figyelhető meg („állóvíz” és „patak” jellegű szakaszok). A longitudinális elterjedési jellegek közül az „állóvíz” típusú csoportra a kvalitatív adatoknál a litorális és mezopotamális jelleg volt jellemző, míg a kvantitatívval ezek mellett kismértékben a hipopotamál jelleg is meghatározóvá vált. A táplálkozásbiológiai csoportok esetében tapasztaltuk a kvalitatív és a kvantitatív adatok között a legnagyobb különbséget. A vizek csoportjainak kialakulásában a főbb tendenciák hasonlóak voltak az előzőekhez, de a csoportokat meghatározó jellegek eltérően alakultak.

Következtetesként elmondható, hogy a három funkcionális csoport együttesen jól alkalmazható a vizek jellemzésére, ugyanakkor a táplálkozásbiológiai csoportok alapján kapott eredményeket kellő kritikával kell értékelni/értelmezni. A faunisztikai adatok felhasználhatósága a vizek jellemzésére lehetővé teszi, hogy a régebbi és/vagy különböző módszerekkel vett minták adatait is összehasonlítsuk, és ezeket felhasználjuk a vízminőség változásainak nyomon követésére.

HidroBiol_1

Inváziós halfajok táplálék-forrásfelosztása a Duna litorális zónájában: a feketeszájú géb (*Neogobius melanostomus*) és a Kessler-géb (*Neogobius kessleri*) összehasonlítása

Borza Péter

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Erős Tibor, Dr. Oertel Nándor, Dr. Török Júlia Katalin

A Duna élővilágában az utóbbi idők egyik legjelentősebb változása a ponto-kaspikus gébfélék terjeszkedése volt. A magyar szakaszon bizonyítottan előforduló öt faj közül jelenleg a feketeszájú géb (*Neogobius melanostomus*) és a Kessler-géb (*Neogobius kessleri*) a leggyakoribb. Tömeges előfordulásuk miatt ökológiai jelentőségük kiemelkedő lehet a litorális régió bentikus közösségében. A táplálék-hálózatban betöltött szerepükről, a közöttük fennálló kölcsönhatásokról ugyanakkor kevés információval rendelkezünk. Vizsgálatunk során a két gébfaj táplálék-összetételét hasonlítottuk össze évszakos gyakoriságú mintavétel alapján (tavasz, nyár, ősz), két különböző élőhelytípusban (természetes partszakasz, partvédő kövezés).

A halak táplálék-összetételét összevetettük az élőhelyeken előforduló bentikus makrogerinctelen-közösség összetételével. A feketeszájú géb évtrendje viszonylag rugalmasan követte a bentikus gerinctelen közösség összetételében kimutatott szezonális különbségeket; nyáron és ősszel főleg bolharákokat és puhatestűeket fogyasztott, de tavasszal áttért az akkor tömeges árvaszúnyogok fogyasztására. A Kessler-géb táplálék-összetétele ezzel szemben rendkívül stabil volt, mindkét élőhelyen, mindhárom évszakban a *Dikerogammarus* fajokra támaszkodott, továbbá elsősorban a nagyobb testű egyedeknél a halfogyasztás is jelentős volt. A leggyakrabban fogyasztott halfaj a feketeszájú géb volt, amit intraguild predációként értelmezhetünk.

A táplálékátfedés jellemzésére alkalmazott diszkriminancia-analízis, valamint a forrásátfedési indexek értékei jelentős évszakos különbségeket mutattak; nyáron és ősszel jelentős átfedést tapasztaltunk, míg tavasszal jobban elkülönült a két faj táplálék-összetétele.

Eredményeink alapján valószínűnek tartjuk, hogy a tapasztalt forrásfelosztási mintázatot elsősorban a fajok eltérő morfológiájából következően különböző táplálékpreferenciája határozza meg.

HidroBiol_1

A *Bosmina longirostris* méret- és termékenységváltozása a Major-tóban

Havasi Máté
Pannon Egyetem, Környezettudományi szak

Témavezetők: Dr. Padisák Judit, Dr. Tátrai István

Az oligotrofizációs folyamatok stabilitása, a külső rehabilitációs beavatkozások eredményessége szempontjából döntő jelentőségű a tápanyagok - mindenek előtt a foszfor és a nitrogén - belső terhelésének a mértéke és dinamikája. A külső terhelés optimalizálása mellett a belső tápanyagterhelést elsősorban a tápláléklánc szerkezetének, mennyiségi viszonyainak függvényében befolyásolhatjuk oly módon, hogy az ún. tiszta vízű fázis a lehető leghosszabb ideig fennmaradjon.

A vízi táplálékhálózatokban a rákplankton szerepe igen jelentős: elsődleges fogyasztó szervezetek, így kapcsolatot teremtenek a termelő autotróf szervezetek és a csúcsragadozók, a halak között. A biomanipulációs kísérletek eredményessége szempontjából döntő jelentőségű lehet tehát a *Cladocera* populációk dinamikájának és táplálkozási kapcsolatainak ismerete. A zooplankton testmérete és termékenysége, olyan könnyen mérhető paraméterek, melyekből következtethetünk a táplálkozási kapcsolatokban betöltött szerepére, az egyes trofikus szintek közötti interakciók mikéntjére és erősségére.

Vizsgálatunk célja ezért a tóban élő domináns *Cladocera* plankton méret- és termékenységváltozásának nyomon követése, valamint a tó táplálékhálózatában betöltött szerepének vizsgálata. Kutatásunkat 2005 áprilisa óta a Kis-Balaton Vízügyi Rendszer I-es ütemén, a kis felületű, sekély, eutróf vízű Major-tavon végezzük. A zooplankton mintákat havi-kétheti rendszerességgel vettük a tó 6 pontján (3 nyílt víz, 3 parti víz) Schindler-Patalas mintavevővel. A planktont Lugollal fixáltuk, a laboratóriumban meghatároztam a domináns taxont, melynek 100-120 egyedéről gyűjtöttem adatokat. Az egyedek testhosszát számítógépes képelemző szoftver segítségével mértem, a peteszámot mikroszkóp alatt határoztam meg.

A tóban 2005-2006-ban is a *Bosmina longirostris* dominált a *Cladocera* planktonban, testhossza és termékenysége egyaránt alacsony volt. A mért értékek szezonális dinamikát mutattak: nyáron mind a peteszám, mind pedig a testhossz alacsonyabb volt, mint tavasszal és ősszel. A testhosszcsökkenést a halak kifalása elleni védekezés eredményeképpen értelmezzük. 2007-ben a *B. longirostris* domináns szerepe megszűnt, más fajok jelentek meg nagyobb mennyiségben. Megállapítottuk, hogy a *Cladocera* plankton szűrési hatékonysága kicsi volt a Major-tóban, a halakhoz pedig csak kis százalékuk jut tovább. A Major-tóban a *Bosmina* populáció dinamikáját a fitoplankton méretstruktúrája, mennyisége és a halállományok együttesen szabályozzák.

HidroBiol_1

**Huminyanyagok fotolitikus bomlásának vizsgálata vízi
környezetben**

Keresztes Zsolt Gyula
Babes-Bolyai Tudományegyetem, Kolozsvár
Általános és vízi ökológia szak

Témavezetők: Dr. V.-Balogh Katalin, Dr. Fodorpataki László

A felszíni vizekben a szerves anyagok mennyisége alapvető jellemzője a vízminőségnek. Ezek adszorpció, mikrobiális, és fotolitikus folyamatokkal bomlanak.

Célunk volt az oldott szerves szén fotokémiai bomlásának megismerése a Zala folyó torkolatában és a Balaton különböző medencéiben. A Zala torkolatban és a Balaton különböző medencéiben (Keszthelyi-medence, Szigligeti-medence, Szemesi-medence, és a Siófoki-medencében, Tihanynál és Balatonfüzfőnél) 2007 júniusában vett vízmintákat Nap-szimulátorban egy átlagos nyári nap sugárzásának (UV-B, UV-A és PAR) tettük ki. Az oldott szervesanyagok minőségi és mennyiségi változásait 28 napon keresztül vizsgáltuk. Mértük az oldott szerves szén (DOC) koncentrációját, optikai és fluoreszcens jellemzőit, és a huminyanyagok részeseését, meghatároztuk a fotolitikusan bontható oldott szerves szén mennyiségét, bomlási sebességét és felezési idejét. A kísérlet kiindulásakor az oldott szerves szén koncentráció a Balaton eltérő helyeiről vett vízmintákban 8,7 (Siófoki-medence) és 14,4 mg l⁻¹ (Zala torkolat) között változott. A kísérlet alatt a DOC csökkenésének mértéke, vagyis a fotolitikusan bomló DOC koncentráció helyenként jelentősen eltért, csupán mg l⁻¹ volt a Siófoki-medencében, ennek több mint hatszorosa (1,2 -1,4 mg l⁻¹) bomlott a tó középső és nyugati területén, míg a Zala folyó torkolatában több mint egy nagyságrenddel nagyobb 3,4 mg l⁻¹ volt. A felezési idő, mint a bomlási sebesség mutatója a legkisebb a Zala torkolatban volt, 80 óra, míg a legnagyobb a Siófoki-medencében, 1400 óra. A barna Zala-víz platinaszín-intenzitása a fotólízis következtében a keszthelyi értékre fakult, míg a fluoreszcens spektrumok alapján a Zala-vízből úgymond "Siófoki-víz" lett.

HidroBiol_1

Marosból származó közönséges csuka (*Esox lucius*), fogassüllő (*Stizostedion lucioperca*), márna (*Barbus barbus*) és leső harcsa (*Silurus glanis*) szöveteiben felhalmozódó nehézfémek vizsgálata

Kovács Etelka
Szegedi Tudományegyetem, Biológia-földrajz szak

Témavezető: Dr. Kiss Tímea

A szennyezések nem csak a vizek kémiai paramétereit érintik, hanem az élővilágot is. Különösen érintett a Maros, amelynek vizében jelentős mértékű nehézfém-tartalmat mértek, és melynek vízgyűjtőjén több nemesfém-bánya is működik. A nem biodegradálható nehézfémek jelentős akkumulációra képesek a táplálékláncban, ezért a Marosból kifogott halak elfogyasztása potenciális környezeti veszélyt jelent a Maros mentén élők számára.

Vizsgálatom célja, hogy (1) összehasonlítsak különböző feltárási módszereket, hogy megállapítsam, melyik a hatékonyabb; illetve (2) különböző marosi halfajok szöveteiben felhalmozódott nehézfém-tartalmat összehasonlítsam és ezt (3) összevegyem a vízben mért koncentrációkkal.

A Marosból begyűjtött közönséges csuka, fogassüllő, márna és leső harcsa izom-, májszövetéből és kopoltyújából rezet, nikkelt, kadmiumot, cinket és ólmot mutattam ki. A két eltérő feltárási módszert összehasonlítva kiderült, hogy a sósavas feltárással 3,5-5,5-ször több réz, 0,3-3,1-szer több cink, 7,7-szer több nikkelt, 0,5-ször több kadmium és 0,7-szer több ólom mutatható ki ugyanazon mintákból, mint kénsavas főzést alkalmazva.

Megfigyelhető az egyes fémek akkumulációjának szöveti specifikációja: míg a réz és a kadmium a májban (max. 54, illetve 8 ppm), addig a cink a májban és a kopoltyúban (max. 95 és 105 ppm), és az ólom a kopoltyúban (max. 10 ppm) akkumulálódik legnagyobb mennyiségben. Az akkumulációt a vizsgált halfajok eltérő életmódja is befolyásolta, ugyanis az aljzattal közvetlenebb kapcsolatban álló fajok kopoltyújában jelentősebb Cd és Pb felhalmozódást mértem.

A Maros vizében oldott egyes nehézfémek éves átlaga $1 \mu\text{g ml}^{-1}$ alatt maradt 1995-2005 között. Ehhez képest a halak húsában a nikkelt és ólom közel 100-szorosára dúsult fel, míg a kadmium, a réz és cink 1000-szeresére. Összehasonlítva a halhús Cd és Pb tartalmát az emberi fogyasztásra alkalmas MSZ határértékkel megállapítható, hogy ennél jóval több ólom halmozódott fel a vizsgált halak húsában, ami a fogyasztókra káros hatással lehet.

HidroBiol_1

**A *Gammarus roeselii* (Gervais 1835) alakjának felmérése
országunk patakjaiban**

Selmeczy Géza
Pannon Egyetem, Környezettudományi szak

Témavezető: Kovács Kata

A *Gammarus roeselii* a magasabbrendű rákok (*Malacostraca*) osztályának a felemáslábú rákok (Amphipoda) rendjéhez, ezen belül a *Gammaridae* családjához tartozó faj. Ez a faj a vízi ökoszisztémákban fontos szerepet tölt be, Magyarországon gyakori. Munkám során 125 az ECOSURV program keretében gyűjtött mennyiségi és minőségi mintát vizsgáltam meg, melyekben előfordultak a *G. roeselii* fajhoz tartozó egyedek.

A *Gammarus roeselii* urosoma szelvényének tüskézettsége alapján négy morfológiai típust tudtam elkülöníteni. A felmérés során 22299 egyedet vizsgáltam meg. A kutatás során a négy típust összevetettük a vízkémiai adatokkal, valamint a mintavételi helyek tipológiájával.

A felmérés során megállapítottam, hogy a vizsgált víztestekben - melyek jól tükrözik a magyarországi *Gammarus roeselii* faj négy alakkör típusának mennyiségi viszonyait - a „B” típus (azaz a „triachantus” forma) kimagaslóan domináns a másik három formához képest.

Az alakformák elterjedése és a vízkémiai paraméterek között markáns összefüggést nem találtam, de alapkötet alapján történő összehasonlítás során azt lehetett megállapítani, hogy a faj a meszes alapkötetű területen folyó vízfolyásokban él.

HidroBiol_1

**Az ócsai Öregturján különböző víztereinek hidrobiológiai
állapotfelmérése kistrák együtteseik vizsgálatával**

Vad Csaba Ferenc

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Forró László, Dr. Török Júlia Katalin

Kutatásom helyszíne az Ócsai Tájvédelmi Körzet északi, Öregturján nevű része, amely egy posztglaciális reliktum lápterület. Fokozottan védett vizes élőhely, éppen ezért meglepő, hogy hidrobiológiai szempontból kevésbé feltárt, a kistrák (*Copepoda*, *Cladocera*) fauna felmérése pedig még nem történt meg.

2008. évi tér-idő vizsgálatom során öt helyszínen háromhetente vettem hálózásos (minőségi) és szemikvantitatív mintákat, a térbeli elkülönülés kimutatása végett az egyes mintavételi helyeken belül három különböző mikrohabitatból. Néhány, a vízi közösségek szempontjából számottevő környezeti tényezővel való kapcsolat feltárására abiotikus (pH, vízhőmérséklet vezetőképeség, sótartalom, nitrát- és foszfáttartalom) és biotikus (algaszám) változókat mértem.

A fajokra és élőhelyekre vonatkozó összefüggések megállapítására, valamint az egyes víztestek jellemzésére sokváltozós statisztikai módszereket alkalmaztam. Kutatásom során több ritka faj is előkerült, faunisztikai szempontból kiemelendő a *Cyclops insignis* CLAUS, 1857, melynek eddig hazánkban egy közölt előfordulási területe ismert. Az egyes vízterek fajkészletükben meglehetősen hasonlóak voltak, ugyanakkor fajegyütteseik alapján jól elkülönültek. Számottevő eltérés mutatkozott az egyes mikrohabitatok kistrák együtteseik között is. A kimutatott fajok többsége, valamint a meglehetősen magas foszfáttartalom a terület szárazodását és erőteljes eutrofizációját jelzik.

Hidrobiológia II. tagozat

Időpont: Április 9. 15:00

Terem: O épület, 3. terem

A zsűri elnöke: **Prof. V.-Balogh Katalin**, tudományos főmunkatárs,
címzetes egyetemi tanár
MTA Balatoni Limnológiai Kutatóintézet

tagjai: **Dr. Grigorszky István**, egyetemi docens
Debreceni Egyetem, Hidrobiológiai Tanszék

Dr. Paulovits Gábor, tudományos főmunkatárs
MTA Balatoni Limnológiai Kutatóintézet

15:00	Ágyi Ákos	BBTE	A fitoplankton fotoszintézisének vizsgálata folyamatosan változó fényviszonyok mellett
15:20	Boda Réka, Kovács Tamás Zoltán	PTE TTK	Vízi makrogerinctelen szervezetek térbeli előfordulási sajátosságainak elemzése a Balaton vízgyűjtőjén
15:40	Horváth Zsófia	ELTE TTK	Planktonikus kistrákók és makrogerinctelenek valamint potenciális szerepük a vízimadarak táplálkozásában a Nyirkai-Hany élőhely-rekonstrukciós területen
16:00	Kaló Alexandra	EKF TTK	Miskolc ivóvízellátása, a Szinva-patak vízminősége
16:20	Németh Ildikó	DE TTTK	<i>In situ</i> levéllebontási kísérlet síkvidéki vízfolyásokban
16:40	Szünet		
16:50	Tomor Barbara	ELTE TTK	A vízimadarak szerepe a <i>Cryptosporidium oociszták</i> és <i>Giardia</i> ciszták terjesztésében Magyarországon
17:10	Tóth Livia	PE MK	Kovaalga fajsám és diverzitás vizsgálatok eltérő rendűségű vízfolyásokon

HidroBiol_2

**A fitoplankton fotoszintézisének vizsgálata folyamatosan változó
fényviszonyok mellett**

Ágyi Ákos

*Babes-Bolyai Tudományegyetem, Kolozsvár
Szárazföldi és vízi ökológia mester szak*

Témavezetők: Dr. Vörös Lajos, Dr. Fodorpataki László

Természetes körülmények között a turbulens áramlás következtében az algasejtek folyamatosan változó fényviszonyoknak vannak kitéve.

A fitoplankton produktívjának mérésére alkalmazott statikus inkubáció során a felszín közelben rendszeresen megfigyelhető a fénygátlás jelensége. Ez minden bizonnyal műtermék és az elsődleges termelés jelentős alulbecsléséhez vezethet, mivel az algák rövid ideig képesek elviselni, illetve felhasználni az erős fényt (Gocke és Lenz 2004). Ennek ellenére aránylag kevés kutató épített olyan algatermesztő inkubátorokat, amelyek folyamatosan változó fényviszonyokat szimulálnak, még kevesebben alkalmaztak különböző emelőszerkezeteket a mintaedények vízszlopban való mozgatásához a helyszíni inkubáció során.

A Balaton esetében a fitoplankton fotoszintézisének helyszíni mérése eddig kizárólag statikus inkubációval történt. Ezért 2007 nyarán összevetettük a statikus és a dinamikus inkubáció módszerét a Siófoki-medence vizében élő fitoplankton fotoszintézisének mérésénél.

HidroBiol_2

**Vízi makrogerinctelen szervezetek térbeli előfordulási
sajátosságainak elemzése a Balaton vízgyűjtőjén**

*Boda Réka, Kovács Tamás Zoltán
Pécsi Tudományegyetem, Környezettudományi szak*

Témavezetők: Dr. Csabai Zoltán, Dr. Móra Arnold

A vízfolyásban előforduló makrogerinctelen együttesek minőségi és mennyiségi viszonyai jellemzik az adott élőhely minőségi állapotát. Tér- és időbeli előfordulási viszonyaikban az abiotikus és biotikus szabályozó tényezőknek meghatározó szerepe van. A hazai, így a Balaton környéki kisvízfolyások biológiai és ökológiai állapotáról kevés adattal rendelkezünk, ugyanakkor a makrogerinctelen együttesek összetétele és a környezeti tényezők közötti kapcsolatok mielőbbi megismerése szükséges a balatoni befolyók biológiai sokféleségének védelme érdekében. Célunk megismerni a lokális és a vízgyűjtő léptékű környezeti tényezők hatását az egyes élőhelyek vízi makrogerinctelen közösségeire.

A mintavételezést 2008 nyarán a Balaton északi és déli vízgyűjtőjén, valamint a Zala vízgyűjtőjén végeztük. A gyűjtéseket az AQEM protokoll (egységes európai folyóvízi makrogerincteleneken alapuló ökológiai minősítési rendszer) alapján, „multi-habitat” mintavételezéssel végeztük. 2008-ban párhuzamosan vízkémiai vizsgálatokat is végeztünk, 2007-ben pedig számos egyéb környezeti paraméter felvétele is megtörtént. Az értékelést CANOCO programcsomaggal, kanonikus korrespondencia-analízissel végeztük.

A Coleoptera, Heteroptera, Ephemeroptera, Plecoptera és a Tichoptera csoportokból 167 fajt azonosítottunk, melyek összegyedszáma 12570 volt. A Coleoptera és Heteroptera (BP), valamint az Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera (EPT) csoportokat külön szórásdiagramokon vizsgáltuk. A vizsgált patakokat összevetettük (1) a mért vízkémiai paraméterekkel, továbbá (2) a mintavételi szakaszt jellemző vízgyűjtő léptékű táji változókkal, (3) a mintavételi szakaszt övező partszegélyt jellemző táji változókkal és (4) a mintavételi szakaszt jellemző közvetlen élőhelyi változókkal. A kémiai paraméterek közül elsősorban a hőmérséklet, az oldott oxigén, a foszfortartalom, az összes sótartalom és a pH volt hatással a makrogerinctelenek szórásdiagramon való helyzetére. A táji változók közül a fajegyüttesek előfordulási mintázatát mind vízgyűjtő léptékben, mind a partszegély mentén a természetközeli és a mesterséges területek aránya befolyásolta. A vegetációra vonatkozó változók közül a fajegyüttesek összetételét leginkább az élőhely nyitottsága befolyásolta. A medermorfológiai változók közül a fajegyüttesek előfordulására erős hatással volt a vízmélység és a vízsebesség. Elkülönülés figyelhető meg az alzat szemcse-összetétele alapján is.

Az eredményeink alapján megállapíthatjuk, hogy a BP valamint az EPT csoportok között csak apró különbségek figyelhetők meg az előfordulás és a környezeti változók egymáshoz való viszonyának tekintetében.

HidroBiol_2

Planktonikus kistrákok és makrogerinctelenek valamint potenciális szerepük a vízmadarak táplálkozásában a Nyirkai-Hany élőhely-rekonstrukciós területen

Horváth Zsófia

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Andrikovics Sándor, Szövényi Gergely, Ambrus András

Kutatásomat a Fertő-Hanság Nemzeti Parkban található, 2001-2002-ben kialakított Nyirkai-Hany vizes élőhely-rekonstrukciós területen végeztem. Vizsgáltam az év során a vízmadarak rendelkezésére álló gerinctelen eredetű táplálékkínálatot, annak térbeli és szezonális különbségeit, és statisztikailag igazolható összefüggést kerestem a területen tartózkodó vízmadarak és a rendelkezésükre álló táplálék között, emellett kutatásom a Nyirkai-Hany gerinctelen faunájának felmérését is szolgálta.

A terület 10 mérési pontján, különböző társulásokban egy éven át havonta végeztem plankton, bentosz és metafiton mintavételt 2007 áprilisától 2008 májusáig, melynek során a Cnidaria, Nematoda, Turbellaria, Hirudinea, Oligochaeta, Gastropoda, Acari, Cladocera, Copepoda, Ostracoda, Branchiura, Isopoda, Ephemeroptera, Odonata, Heteroptera, Coleoptera, Trichoptera és Diptera csoportok egyedeit vizsgáltam. Vizsgálataim során összesen 13019 kistrák és 3937 makrogerinctelen került meghatározásra. 151 taxont (133 fajt és 18 nagyobb rendszertani kategóriát, pl. genust) mutattam ki, ebből 95 faj a Nyirkai-Hanyból most került először leírásra.

Ebből hazánkban ritkának számít az árvaszúnyogok közül a *Paralymnophyes longiseta* Thienemann, 1919, a csípőszúnyogok közül az *Anopheles algeriensis* Theobald, 1903, az ágascsapú rákok közül pedig a *Pleuroxus denticulatus* Birge, 1879 és a *Daphnia ambigua* Scourfield, 1946. A hazai faunára nézve két új Chironomidae faj került elő a Nyirkai-Hany területéről, a *Glyptotendipes foliicola* Contreras-Lichtenberg, 1997 és a *Cladotanyarsus atridorsum* Kieffer, 1924.

Mivel kevés, feltételezhetően a valós táplálkozási kapcsolatokat tükröző szignifikáns korrelációt találtam, így valószínűsíthető, hogy a területen (fiatal korából adódóan) még mindig elsősorban a sztochasztikus hatások dominálnak. Ezt támasztják alá a makrogerinctelenek és kistrákok fajkészletében bekövetkező nagy változások és a két év tavaszi hónapjai közti biomasz-, prezencia- és denzitásbeli eltérések is. Ugyanakkor a vizsgálati időszakban a Nyirkai-Hanyban a Chironomidae-, Ephemeroptera- és Odonata-eredetű táplálék jelentős mennyiségben fordult elő, ami jó táplálékbázist biztosított a bentosz, nekton és makrofita lebontásgyorsító vízmadár guildok tagjainak, amelyek az anyagszállító guildcsoport mellett a legnagyobb mennyiségben képviseltek a területen.

HidroBiol_2

Miskolc ivóvízellátása, a Szinva-patak vízminősége

Kaló Alexandra

Eszterházy Károly Főiskola, Földrajz-környezetvédelem szak

Témavezetők: Dr. Kárász Imre, Misik Tamás, Polák Péter

Miskolc város életében mindig is fontos szerepe volt a Bükk-hegységben és környezetében fakadó forrásoknak. A Szinva-patak az egyik legjelentősebb élővíze a városnak, melynek tisztasága az egész lakosságot érintő kérdés.

A kutatásban nagy segítséget nyújtott a helyi civil szervezet. A következő komponenseket vizsgáltuk: a víz- és a levegő hőmérséklete, a víz elektromos vezetőképessége, a víz pH értéke, a víz oldott oxigéntartalma, oxigén telítettsége, a víz szennyezésére utaló ammónium-, nitrit-, nitrát- és foszfátionok pillanatnyi koncentrációja, illetve a víz érzékelhető színe, szaga, zavarossága, esetleges habzása.

A gyorsesztés és digitális műszerek eredményei alapján jól kitűnik a mellékágak esetén 2004-ben megemelkedik a nitrátion koncentrációja, ami a leginkább októberben mutatkozik meg. A foszfátion jelenléte leginkább mosó- és tisztítószerekre utal. Mértéke a Lyukó- és Pece-pataknál ugrik meg a novemberi és októberi mérés során. A vezetőképesség értékeinek romlása minden időszakban hasonlóan alakul, ugyanazoknál a mintavételi pontoknál növekszik.

A 2005-ös méréseket kiegészítették a Pece-patak másik ágával, ami nagy mértékű szennyezést mutatott az októberi időszakban. A nitrátion esetében már a Hóvirág utcánál is kiugrás figyelhető meg. A foszfátion a Pereces-patakban rendkívül magas koncentrációban fordul elő. A vízben lévő összes oldott só (ion) mennyisége nagy. Ennek oka, hogy Lyukóbánya területén a bánya és meddő kimosódások miatt a vízben oldott ionok nagy mennyisége eredményezi a szennyezettséget.

2006-ban jelentős probléma a Lyukó-patak mentén és a torkolatnál a nem megfelelő hulladékkezelés.

A 2007-es méréseken a nitrátion láthatóan a Pereces-patakban megnövekedett koncentrációt mutat, októberben fokozott mértékben. Az oldott foszfátartalom egyértelműen utal a lakossági szennyvíz növekedésére. A Pereces-patak vízminőségi értékeiben szembetűnő a jelentős lakossági eredetű szennyvíz-szennyeződés (nitrát- és foszfátionok). A szárazság következtében a komponensek koncentrációja megemelkedett.

Évről évre apró változások figyelhetők meg. A mellékpatkok állapota sajnos minden évben problémás. A leginkább súlyos terület vízminőségi szempontból a Pereces- Lyukó- és Pece-patak. Állapotok javulása érdekében sürgős feladat a környéken lakókkal megoldani a hulladékkezelést. Fontos a megelőzést előtérbe helyezni.

HidroBiol_2

***In situ* levéllebontási kísérlet síkvidéki vízfolyásokban**

Németh Ildikó
Debreceni Egyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Nagy Sándor Alex, Dr. Borics Gábor

Levéllebontási kísérletünk során célunk az volt, hogy természetes körülmények között kövessük nyomon, miként népesítenek be, és bontanak le egy táplálékforrásként szolgáló allochton anyagot a makroszkopikus vízi gerinctelenek a rendelkezésre álló idő alatt, és hogy milyen taxonok vesznek részt ebben a folyamatban.

A kelet-magyarországi síkvidéki kis vízfolyásokban végzett *in situ* levéllebontási kísérletekhez a fehér fűzet (*Salix alba* L.) választottuk, mert ez a növény széles körben elterjedt Magyarországon alföldi területein, valamint számos hasonló tanulmány veszi alapul ezt a fajt.

Kísérletünk során azt próbáltuk modellezni, hogy miként telepednek meg a lebontásban résztvevő gerinctelen szervezetek a kihelyezett, allochton növényi anyagon, ehhez pedig a számos szakirodalomban említett levéltasakos módszert alkalmaztuk. A tasakok műanyag hálóból készültek, melyeket henger, illetve négyszögletes alakban illesztettünk össze. Két féle lyukbőségű hálóból dolgoztunk, az egyik 1 mm, a másik 4 mm volt. A későbbiekben ezekbe helyeztük bele a fűzfaleveleket.

Munkánk során közel 220 mintát dolgoztunk fel a 2008 júliusától augusztusig terjedő időszakban. A leggyakoribb lebontó szervezetek, melyek minden vízfolyásban, és minden szembőségű műanyag tasakban előfordultak a Chironomidae lárvák, valamint *Asellus aquaticus*-ok voltak, melyek megjelenése már az első hét végén tömeges volt. Ezek mellett a *Niphargus valachicus* képviseltette magát a legnagyobb számban.

A mintákból számos egyéb Odonata, Ephemeroptera, Heteroptera és Megaloptera faj is előkerült, melyek többsége táplálkozás módjukból adódóan közvetlenül nem vesznek részt a levelek lebontásában.

HidroBiol_2

A vízimadarak szerepe a *Cryptosporidium* oociszták és *Giardia* ciszták terjesztésében Magyarországon

Tomor Barbara

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Plutzer Judit

A kriptosporidiosis az egyik leggyakoribb parazita fertőzés a házi- és vadmadarak körében. Habár az eddigi megfigyelések szerint a madarak megbetegedését okozó *Cryptosporidium* fajok emberre nem veszélyesek, számos faj feceséből mutattak ki humán patogén *C. parvum*-ot. Néhány madárfaj ürülékben találtak emberi eredetű *Giardia lamblia* cisztákat is.

Hogy megtudjuk, milyen szerepet játszhatnak a vízimadarak a *Cryptosporidium* oociszták és *Giardia* ciszták terjesztésében Magyarországon, 2008 tavaszán Baranya, Békés, Csongrád és Szabolcs-Szatmár-Bereg megyei kacsá- és libatartó telepekről származó 29 házi kacsá és házi lúd ürülékmintát, valamint 103 Kis-Balaton környékén gyűjtött vadon élő vízimadár ürülékét vizsgáltuk meg klasszikus és molekuláris biológiai módszerekkel.

A mikroszkópos vizsgálatok alapján 2 (6,9%) házimadár és 2 (1,9%) vadmadár volt *Giardia* pozitív, és 3 (10,3%) házimadár mintában találtunk *Cryptosporidium* oocisztát. A PCR reakció eredményeként 3 (10,3%) házi- és 5 (4,9%) vadmadár minta bizonyult *Cryptosporidium* pozitívnek, valamint 2 (6,9%) házi- és 3 (5,8%) vadmadár *Giardia* pozitívnek. A PCR pozitív minták szekvenálása alapján a minták *C. baileyi*-t, *C. parvum*-ot, *G. lamblia* Assemblage A-t és B-t tartalmaztak.

Az utóbbi három detektált faj humánpatogén és zoonotikus terjedésük sem kizárt, ezért feltételezzük, hogy a vízimadarak, ha csekély mértékben is, de emberre nézve potenciális fertőzésforrást jelenthetnek és szerepük lehet e protozoonok által okozott járványok kialakításában Magyarországon.

HidroBiol_2

**Kovaalga fajszám és diverzitás vizsgálatok eltérő rendűségű
vízfolyásokon**

Tóth Livia

Pannon Egyetem, Környezettudományi szak

Témavezető: Dr. Stenger-Kovács Csilla

A kovaalgákhoz tartozó fajok indikátor szervezetek és a biológiai vízminősítésben fontos szerepük van. A belőlük származtatott információk (diverzitás, fajszám, egyenletesség és kovaalga indexek) alapjaik lehetnek az ökológiai állapotbecslésnek, ezért a Víz Keretirányelv (VKI) egyik indikátorcsoportját képezik.

Munkám során az ECOSURV projekt adatait, a Pannon Egyetem Limnológia Intézeti Tanszékének kutatási eredményeit, diplomadolgozatokból és publikációkból származó adatokat dolgoztam fel. Ezek a munkák a hazai vízfolyásokkal foglalkoznak, melyekből összesen 683 mintavételi pontról tudtam kovaalga adatokat (fajszám, relatív gyakoriság) gyűjteni és ezekből számoltam ki a Shannon-diverzitást és az egyenletességet. A vízfolyások rendűségét a mintavételi pontok pontos meghatározása és megkeresése után 506 ponton tudtam meghatározni, melyhez ArcView GIS 3.2 térinformatikai rendszert és a mintavételi helyek EOY koordinátáit, valamint a nem magyarországi eredésű vízfolyásoknál a szomszédos országok turista, illetve autóstérképeit használtam fel.

Eredményeim azt mutatják, hogy a fajszám és Shannon-diverzitás értékek erős pozitív (fajszám esetében $r = 0,426$; diverzitás esetében $r = 0,231$) szignifikáns ($p = 0,000$) korrelációt mutatnak a rendűséggel. Az egyenletesség értékek és a rendűség kapcsolatában nem találtam összefüggést. Eredményeim alapján az irodalom szerinti, referencia helynek javasolt fajszám és diverzitás értékek alkalmazásánál mindenképpen figyelembe kell venni a vízfolyások rendűségét is.

A jelenlegi hazai tipológia közvetlenül nem veszi figyelembe a vízfolyások rendűségét, a vízgyűjtő mérete azonban szerepel a kategorizálásban. A vízfolyás vízgyűjtő területének nagysága azonban összefügg a folyók rendűségével, egymásnak megfeleltethetők – követve a modern limnológia felfogását – így a tipológia biológiai validálásánál ez is figyelembe vehető.

Humánbiológia tagozat

Időpont: Április 9. 09:00

Terem: N épület, Radiokémia előadó

A zsűri elnöke: **Dr. Fóthi Erzsébet**, főosztályvezető helyettes,
főműzeológus
Magyar Természettudományi Múzeum, Embertani Tár

tagjai: **Dr. Major Jenő**, megbízott főigazgató helyettes
Országos Kémiai Biztonsági Intézet

Dr. Pálfi György, tanszékvezető egyetemi docens
Szegedi Tudományegyetem, Embertani Tanszék

09:00	Ágota Annamária	ELTE TTK	A testi fejlettség és a vérnyomás közötti összefüggések
09:20	Gyarmati Renáta	DE TTTK	Frontérzékenységi vizsgálatok Debrecenben a 2006-2008-as időszakra vonatkozóan
09:40	Hricisák László	ELTE TTK	Budapesti gyermekek tápláltsági állapotának szekuláris változása
10:00	Kálló Karola	SZTE TTIK	Újszülöttek testi fejlettségének összehasonlító vizsgálata Szegeden
10:20	Pintér Zoltán, Vida Ernesztina	SZTE TTIK	„Súlyos kérdések” – szegedi egyetemisták tápláltsági állapota
10:40	Szünet		
10:50	Szabó Gyöngyi	SZTE TTIK	Egy késő középkori temető embertani leleteinek paleoszomatológiai vizsgálata
11:10	Wolff Katalin	ELTE TTK	Zalavár-Kápolna Árpád-kori temető: a régészet és a történeti antropológia eredményei

HumBiol

A testi fejlettség és a vérnyomás közötti összefüggések

Ágota Annamária
Eötvös Lóránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Bodzsár Éva

Felnőttkorban az obezitás és a hipertónia elsődleges kockázati tényezői a keringési rendszer betegségeinek. A felnőtt népesség életminőségét erősen befolyásoló kóros állapotok egy része már gyermekkorban és ifjúkorban is megjelenik. Mindkét betegség ún. 'tracking' tendenciával bír, a serdülő- és ifjúkori vérnyomásértékekből a felnőttkoriak előrejelezhetők. A vérnyomás életkori alakulását, valamint a testösszetétel és a gyermek- ill. pubertáskori vérnyomásértékek közötti kapcsolatot elemző tanulmányok egymásnak ellentmondó eredményre vezettek.

A vizsgálat célja annak a kérdésnek a megválaszolása, hogy vajon a tápláltsági állapot vérnyomást befolyásoló hatása már gyermek- és serdülőkorban is kimutatható-e. Elemeztük (1) a szisztolés és diasztolés vérnyomás, valamint a pulzus életkori és nemi eltéréseit, (2) a szexuális érettség és a vérnyomásértékek közötti összefüggéseket; illetve (3) a tápláltsági állapot vérnyomásra gyakorolt hatását.

Vizsgált személyek és vizsgálati módszerek: A vizsgálat során 6499, 7-18 éves gyermek adatait dolgoztuk fel. A tenzióértékeket digitális vérnyomásmérővel (Omron) mértük. A szexuális érettségi státuszt a külső genitáliák, a szemérem- és a hónaljiszőrzet, valamint leányoknál a menarche és az emlő, fiúknál pedig az oigarche alapján becsültük Tanner és Zeller skálái alapján. A tápláltsági állapotot a BMI alapján, illetve négykomponensű antropometriai modell segítségével határoztuk meg.

A vizsgálat eredményei: (1) A szisztolés és a diasztolés vérnyomás gyermekkorban gyakorlatilag nem változik, és nincs jelentős eltérés a két nem tenzióértékeiben. Mind a szisztolés, mind a diasztolés vérnyomás értékeiben kimutatható a serdülőkori növekedési lökés, amelynek intenzitása a szisztolés vérnyomás esetében kifejezettebb. A serdülőkori változás következményeként a szisztolés vérnyomás értékeiben szignifikáns nemi különbségek manifesztálódnak. (2) A szexuális érettség előrehaladtával a vérnyomás értékei jelentős változást mutatnak. Mindkét nemnél a serdülőkor első szakaszában a szexuálisan érettebbek vérnyomásértékei magasabbak, a serdülőkori növekedési lökés csúcsa után azonban ezek a különbségek eliminálódnak. (3) A tápláltsági állapot alapján elkülönített alcsoportok vérnyomásának centilis mintázata jelentős eltérést mutat. A túlsúlyos és az obez gyermekek vérnyomásértékei jelentősen nagyobbak az azonos korú, átlagos tápláltsági állapotúakétól, valamint az obez fiúk és az obez lányok vérnyomása a túlsúlyos kortársainál szignifikánsan nagyobb.

HumBiol

Frontérzékenységi vizsgálatok Debrecenben a 2006-2008-as időszakra vonatkozóan

Gyarmati Renáta

Debreceni Egyetem, Környezettudomány szak

Témavezető: Dr. Szegedi Sándor

Az éghajlat XXI. század végére becsült változása, az extrém időjárási események gyakoriságának növekedése jelentős többletterhet ró az emberi szervezetre. Az emberi homeosztázis ezeket a hatásokat bizonyos körülmények között ki tudja egyenlíteni. Azonban a gyors és nagymértékű változásokat nem mindig tudja kompenzálni, ennek következményeként jelentkezik az időjárás- és a frontérzékenység is, melyek bizonyos megközelítésben már most is népbetegségeknek tekinthetők.

Dolgozatomban a frontátvonulás és a születések száma közötti kapcsolatot tanulmányoztam a DEOEC-Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikájának adatai alapján. Az eredmények tükrében megállapítható, hogy a szülécek megindulása akkor várható, ha valamilyen új fronthatás következik be. Frontmentes napokhoz képest tartózkodó melegfrontok alkalmával nem mutatható ki emelkedés, a többi 8 fronttípusnál azonban növekedés tapasztalható. Ezen információk az időjárási előrejelzések figyelembe vételével gyakorlati szempontból is hasznosíthatóak, például a munkabeosztások készítésénél.

A 2008 novemberében végzett kérdőíves felmérés során 515 interjú készítem, amely többek között a hőérzetre és a frontérzékenységre vonatkozó bioklimatológiai kérdéseket tartalmazott. Az eredmények tükrében megállapítható, hogy a megkérdezett nők 61,4 %-a vallotta magát frontérzékenynek, a férfiaknál ugyanez 31,7%.

A téma feltárására vonatkozó további vizsgálatok szükségességét több tényező is igazolja. Többek között, hogy a megkérdezett frontérzékenyek 22,7%-a állítása szerint nem tudja eldönteni, hogy melyik típusú frontra érzékeny. A nők többségénél a kettős frontérzékenység előfordulása a leggyakoribb, a férfiaknál a hidegfrontra érzékenyek aránya a legmagasabb. Igazolódni látszik, hogy a migrénre hajlamosaknál az időjárás jelentős kiváltó oknak tekinthető. A meteoropáták többsége fejfájásra, fáradtságra, ízületi bántalmakra, szédülésre panaszkodott a többi – kisebb arányban előforduló – tünet mellett. A közeljövőben további kutatási alapot adhat az, hogy a nőknél fokozatos emelkedés figyelhető meg a frontérzékenyek és az allergiások százalékos arányaiban. 60 év fölötti megkérdezettek között minden allergiás frontérzékenynek bizonyult. Igazolódott a kutatás során, hogy az életkor előrehaladtával az ízületi betegségben és a keringési zavarokban szenvedők aránya fokozatosan nő.

Eredményeim felhívják a figyelmet a humán bioklimatológiai vizsgálatok és köztük a frontérzékenység feltárására vonatkozó vizsgálatok fontosságára. Későbbiekben további kutatások alapjául szolgálhatnak az ebben a témában tapasztalt és mért eredmények.

HumBiol

Budapesti gyermekek tápláltsági állapotának szekuláris változása

Hricisák László

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Zsákai Annamária

Napjainkban növekvő tendencia figyelhető meg a túlsúlyosság és az obezitás prevalenciájának alakulásában a fejlett országokban. A túlsúly önmagában is betegség, továbbá elsődleges rizikófaktora a szív- és érrendszeri betegségek kialakulásának, melyek a fejlett világ vezető halálói tényezői. A gyermekkori elhízás felnőttkori obezitásra predesztinál, ezért az egészségi státusz jobbítása érdekében preventív intézkedésekre van szükség.

A vizsgálat célja az elmúlt hetvenöt év alatt végzett budapesti növekedésvizsgálatok adataiból a gyermekek növekedési mintázatában bekövetkezett szekuláris változások elemzése, valamint a testforma egy generációváltás alatti módosulásainak kimutatása a testarányok, a testösszetétel és a tápláltsági állapot alapján.

A növekedési mintázat szekuláris változását a Braunhoffner 1930-ban, Viola 1951-52-ben, Eiben 1968–69-ben, 1985-ben, Németh 1995-ben és Bodzsár 2005-ben végzett vizsgálatának adatai alapján elemezzük. A testforma és a tápláltsági állapot szekuláris változását pedig az 1985-ben (Eiben *et al.*), illetve 2005-ben (Bodzsár *et al.*) felvett adatok segítségével vizsgáljuk. A tápláltsági állapotot a BMI alapján, a Cole-féle életkori kritikus értékek felhasználásával, a testösszetételt kétkomponensű modell segítségével becsültük, továbbá a gyermekek testalkatát a Heath–Carter-féle szomatotípus komponenseivel jellemeztük.

A budapesti gyermekeknek az 1930 és 2005 közötti évekből származó testmagasság és testtömeg adatsora határozottan növekvő trendet mutat. Az elmúlt húsz év alatt a szélességi adatok (csípőszélesség, vállszélesség) csökkentek, ami a csontozat folyamatos linearizálódását, gracilizálódását vetíti elő. A BMI, a testösszetétel analízis és az endomorfia értékeinek változása azt mutatja, hogy egy generációváltás alatt a gyermekek testzsírossága fokozódott, és ez a növekedés a fiúknál kifejezettebb. A testtömeg növekedését tehát a zsírfrakció nagyobb mértékű növekedése kísérte, azaz az elhízás mértéke is nőtt az elmúlt húsz év alatt, hiszen az obez gyermekek prevalenciája jelentősebben nőtt, mint a túlsúlyosaké. A szomatotípus másik két komponensének változása alapján még az is megállapítható, hogy a testzsírosság fokozódása mellett a csont- izom robuszticitás csökkent, főleg a leányoknál.

HumBiol

Újszülöttek testi fejlettségének összehasonlító vizsgálata Szegeden

Kálló Karola

Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Orvos Hajnalka

A társadalmi és népegészségügyi helyzet változásának alkalmas vizsgálati eszköze az újszülöttek testi fejlettségének vizsgálata. A rendszerváltást követő táplálkozási, gyógyszer-, és vitaminszedési szokások, valamint kulturális változások újszülötteken kimutatható hatását korábban tíz éves távlatban (1989 és 1999-ben) vizsgálták, amely megmutatta, hogy az újszülöttek testfejlettségi mutatói változtak.

Célkitűzésünk a 2004. évi születés kori testfejlettségi adatok alapján az utolsó vizsgálat óta eltelt 5 év alatti változások monitorozása.

Az adatokat a SZTE Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika 2004-es szülési naplójából és a hozzájuk tartozó kórlapokból gyűjtöttük ki, az 1989. és 1999. évek adatai korábbi szakdolgozati adatgyűjtésből álltak rendelkezésünkre.

2004-ben a SZTE Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikán 2057 gyermek (1066 fiú és 991 lány) született. Ez az 1989-ben (N=2119) világra jött újszülöttekhez képest, azaz 15 éves távlatban 3%-kal csökkent. Az 1999-ben (N=1579) születettekhez képest, azaz 5 év elteltével pedig 23%-kal nőtt. A 2057 újszülött közül a betöltött 37. hét után, 2500 g feletti testsúllyal született 1617 (826 fiú és 791 lány) egyes újszülöttek adatait vizsgáltuk, azaz az újszülöttek 78,6%-át. Az egyes koraszülöttek aránya 13,05 % volt. 1989-hez és 1999-hez képest nőtt a koraszülöttek aránya. 2500 g-mal, vagy annál nagyobb súllyal 1713 (92,7%) újszülött (883 fiú és 830 lány) született. 2004-ben a korábbi évekhez képest többen születtek kis súllyal, azaz 2500 g-nál kisebb súllyal.

A testméreteket nemek szerint az adott három év átlagaiban hasonlítottuk össze. 2004-ben a testsúly: $=3389,56 \pm 452,38$ g; a testhossz: $=49,99 \pm 2,20$ cm; a fejkörfogat: $=33,84 \pm 1,49$ cm és a mellkörfogat: $=32,98 \pm 1,82$ cm volt. Megállapítottuk, hogy a testméretek változása a korábbi évekhez képest mindkét nemnél hasonló tendenciát mutatott. Testsúlyuk 1989-hez képest mindkét későbbi évben nőtt, testhosszuk és mellkörfogatuk 1989-hez képest nőtt, 1999-hez képest pedig csökkent, fejkörfogatuk pedig 1989-hez képest csökkent, 1999-hez képest pedig nőtt. Az anyák születés kori átlagéletkora 1989-hez és 1999-hez képest is tovább növekedett.

A testméretek átlagait vizsgáltuk a születési sorrend, az anyák lakóhelyének, életkorának, iskolai végzettségének és családi állapotának függvényében. Elemeztük a születések és a születési testfejlettség szezonális változását is.

HumBiol

„Súlyos kérdések” – szegedi egyetemisták tápláltsági állapota

Pintér Zoltán

Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Vida Ernesztina

Szegedi Tudományegyetem, Biológia kiegészítő tanár szak

Témavezető: Dr. Just Zsuzsanna

Az elhízás korunk népbetegsége, járványszerűen terjedő egészségügyi probléma a jóléti társadalmakban. Kialakulásában az öröklött hajlamon kívül döntő szerepet játszik a helytelen táplálkozás és a mozgásszegény életmód.

Világszerte kb. 300 millió felnőtt túlsúlyos társadalmi rétegtől és korosztálytól függetlenül. Magyarország lakosságának több, mint 30-40%-a túlsúlyos és 20%-a elhízott, a lakosoknak tehát durván 60%-a rendelkezik súlyfölséggel. Sajnos a gyerekek körében is rohamosan terjed ez a jelenség.

Az Egészségügyi Világszervezet által kezdeményezett konferencián (Isztambul, 2006. nov. 15-17.) 53 európai ország írta alá az Elhízás Elleni Chartát. Ebben meghatározták az elhízás járványszerű terjedésének megállítására és visszafordítására irányuló harc stratégiai lépéseit. A célkitűzés az, hogy az obezitás jelenleg rendkívül gyorsan növekvő tendenciája 2015-ig visszaforduljon.

Dolgozatunk célja a rendszeres iskolaorvosi szűrővizsgálatokban már nem, és a foglalkozás-egészségügyi vizsgálatokban még nem részt vevő egyetemisták tápláltsági állapotának monitorozása. Az egyetemisták életmódja és étkezési szokásai még változóban vannak, ezért egészségnevelésük, életmód és mozgáskultúra fejlesztésük meghatározhatja egy generáció egészségi állapotát.

Vizsgálatunk során a Szegedi Tudományegyetem 627 hallgatóját, 190 fiút (30,3%) és 437 lányt (69,7%) mértünk fel. Megmértük a hallgatók testsúlyát, testmagasságát, derék- és csípőkerületét, emellett a családi háttérre és az életmódra vonatkozó kérdőívet töltöttük ki velük. Az adatok feldolgozása során kiszámítottuk a testtömeg indexet (BMI), a zsíreloszlás megállapításához a derék/csőpő arányt.

A vizsgált egyetemisták megközelítően 18%-a súlyfelesleggel rendelkezik, jelentős eltérés van a fiúk és a lányok között, a fiúk között több a túlsúlyos és elhízott. Derék-csőpő arány adatok alapján mindkét nemnél az alma típusú zsíreloszlási típus fordul elő gyakrabban.

Az obezitás gyakoriságának vizsgálata mellett a hallgatók BMI kategóriák szerinti eloszlását és BMI átlagértékeit a családi háttérrel és az életmóddal kapcsolatos kérdésekre adott válaszokkal (szülők iskolai végzettsége, lakó- és születési hely, sportolás, étkezési szokások és testsúly megítélése) is összevetettük.

HumBiol

**Egy késő középkori temető embertani leleteinek
paleosztomatológiai vizsgálata**

Szabó Gyöngyi
Szegedi Tudományegyetem, Biológia szak

Témavezetők: Dr. Molnár Erika, Dr. Kocsis-Savanya Gábor

A paleosztomatológia az ásatásokból származó emberi (tágabb értelemben állati) fogak és állcsontok alaktani és patológiai elváltozásainak vizsgálatával foglalkozó tudományterület. Az állcsontok és a fogak fejlődési rendellenességeit, valamint megbetegedéseit kutató fogászati paleopatológia nagy jelentőséggel bír a történeti népelemek biológiai rekonstrukciójában. A fogpatológiai vizsgálatok eredményei tükrözik az adott népesség életkörülményeit, táplálkozási és kulturális szokásait.

Jelen dolgozat célkitűzése Bácsalmás-Óalmás késő középkori (16-17. századi) temető 1993 és 2003 közt feltárt embertani leleteinek fogpatológiai elemzése a napjainkban népbetegségnek számító caries és annak következménycs megbetegedései szempontjából. A feltáráshoz került 396 egyén csontvázmaradványai közül 270 bizonyult alkalmasnak az elemzésre. Vizsgálatainkba a tisztán maradó fogazattal rendelkező 164 csontvázleletet (összesen 2693 fog) vontuk be.

Az állcsontokat rekonstruálás után inspekciós módszerrel vizsgáltuk. Az adatokat vizsgálati lapon rögzítettük, amelyen a fogstátusz felvételén túl az előforduló rendellenességek súlyosságát (kifejezettség, méret), és fogtípushoz kötődését is feljegyeztük. A caries gyakoriságának jellemzésére a nemzetközileg elfogadott mérőszámokat, a caries frekvenciát és a caries intenzitást alkalmaztuk. Mivel a fogszuvasodás következménycs megbetegedéseit csontmaradványokon nehéz elkülöníteni, ezért a fogak vizsgálata során abscessusként jegyeztük fel minden, valószínűsíthetően szuvasodás okozta tasakképződés nyomát.

A fogszuvasodás gyakorisága a prehisztorikus időktől napjainkig egyre nő. Ehhez a trendhez jól illeszkedik a vizsgált széria 71,95%-os caries frekvenciájával. Anyagunkban az életkorral a fogszuvasodás gyakorisága nőtt, kivétel ez alól a Senium korcsoport, ahol visszaesést tapasztaltunk. A caries a férfiaknál nagyobb gyakorisággal (84,57%) fordult elő, mint a nőknél (64%). A fogfelszínek közül az okkluzális és az approximális felszínek, míg fogtípusok szerint pedig a molárisok voltak a leginkább érintettek.

A caries következménycs megbetegedéseinek előfordulási aránya a teljes vizsgálati anyagra nézve 35,98%, az egy főre jutó abscessusos fogak száma 0,55. Az életkorral a periapikális léziók gyakorisága nőtt, kivétel ez alól a Senium korcsoport. Megjelenésében a nemek közt jelentős eltérést nem tapasztaltunk. Az anomália az első moláris, az első premoláris, valamint a szemfog környékén volt leggyakrabban azonosítható.

Eredményeinket késő középkori szériára vonatkozó magyarországi fogpatológiai tanulmányok hiányában nyolc avar és Árpád-kori embertani széria szájpátológiai adataival vetettük össze.

HumBiol

Zalavár-Kápolna Árpád-kori temető: a régészet és a történeti antropológia eredményei

Wolff Katalin

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Gyenis Gyula

A Kárpát-medence az őskortól kezdve a 18. század közepéig a „népek országútja” volt. Az ide érkezett népekből egy időben változó nagyságú „autochton” alapnépesség alakult ki. Zalavár-Kápolna Árpád-kori temető Zala megyében, a Kis-Balaton térségében található. A templom és a temető alatt korábbi időszakokból származó települések nyomai kerültek elő. Ez a terület a Karoling- és az Árpád-korban központi szerepet töltött be, így kutatása nem csak régészeti, hanem antropológiailag is igen fontos. Zalavár-Kápolnánál a kápolna építése és a temetkezések kezdete a 11. században történt és a 13. században fejeződtek be. Az ásatást befejező régész, Ritoók Ágnes szerint a temetkezések rendje (tájolás, mélységi adatok, a sírok szuperpozíciója) alapján négy időrendi horizont különíthető el a temetőben.

Feltételezésünk szerint, az, hogy a temető nem folyamatos temetkezést - hanem négy időrendi horizontot – mutat, eltérő népekre engedhet következtetni. A vizsgálatunk célja tehát ennek a felderítése a temetőben talált csontmaradványok alapján, a történeti antropológia módszereivel.

A vizsgálataink alapján a 2. és 3. horizontot ugyanaz a népesség alkotja. Az 1. és a 2. horizontban a nők között nem találtunk különbséget, ugyanakkor a két horizont férfi tagjai nem azonos népességből valók. A 4. horizont csontjai viszont feltételezhetően egy családi temetkezést képviselnek.

Immunológia I. tagozat

Időpont: Április 9. 09:00

Terem: N épület, 245. terem

A zsűri elnöke: **Dr. Kurucz Éva**, tudományos főmunkatárs
MTA Szegedi Biológiai Központ, Genetikai Intézet

tagjai: **Dr. Fülöp András Kristóf**, egyetemi docens, Semmelweis
Egyetem, Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet

Dr. Márkus Róbert, tudományos munkatárs
MTA Szegedi Biológiai Központ, Genetikai Intézet

09:00	Csordás Gábor	SZTE TTIK	Egy új vérsejtképző szövet azonosítása és jellemzése <i>Drosophila melanogaster</i> -ben
09:20	Fekete Tünde	DE TTK	A mikroRNS-ek szerepének vizsgálata az LPS indukálta jelátviteli mechanizmus gátlásában
09:40	Haluszka Dóra	SZTE TTIK	Ételadalékok által kiváltott valódi allergia vizsgálata
10:00	Kremlitzka Mariann Renáta	ELTE TTK	Immunkomplex-kötő receptorok megjelenése és szerepe emberi memória B-sejteken
10:20	Paréj Katalin	ELTE TTK	C3 komplementfehérje hatása egér dendritikus sejtek érésére és funkcióra
10:40	Szünet		
10:50	Pázmándi Kitti Linda	DE TTK	Az oxidatív stressz hatása a humán plazmacitoid dendritikus sejtek fenotípusos és funkcionális sajátosságaira
11:10	Schneider Andrea	ELTE TTK	Az ösztrogén (17 β -ösztadiol, E2) gyors, nem-genomiális hatásai T- és B limfocitákon

Immun_1

Egy új vérsejtképző szövet azonosítása és jellemzése *Drosophila melanogaster*-ben

Csordás Gábor
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Anó István, Dr. Márkus Róbert, Dr. Maróy Péter

Az állatvilágban anatómiailag jól definiálható szövetekben és szervekben zajlik a vérsejtek képződése. A rovarok vérsejtjei, mind morfológiai sajátágaik, mind funkciójuk alapján a gerincesek veleszületett immunitásának sejtes elemeihez, a testidegen részecskéket bekebelező makrofágokhoz hasonlítanak.

A *Drosophila melanogaster* a legrészletesebben tanulmányozott és genetikailag leginkább feltárt rovar modellorganizmus, így ebben a rendszerben ismerhető meg leghatékonyabban a veleszületett immunitás kialakulásának és működésének folyamata. Bebizonyosodott, hogy a hemociták differenciálódásának kulcsregulátorai ugyanazok az ecetmuslicában és a magasabbrendű szervezetekben. Mivel a vérsejtek identitásának meghatározása konzervált faktorok segítségével, analóg szabályozási mechanizmusok felhasználásával játszódik le, ezért válhatott a *Drosophila* immunrendszere a veleszületett immunitás egyik legrészletesebben vizsgált objektumává. Az utóbbi néhány évben szerzett, exponenciálisan növekvő adatmennyiség ellenére, a *Drosophila* vérsejtképzésének molekuláris, és sejtes folyamatairól szerzett ismereteink még mindig hézagosak. Kísérleteinkben a *Drosophila melanogaster* egyes vérsejtjeinek képződését vizsgáltuk. A fejlődés során követtük, melyik életszakaszban hol történik a hemociták osztódása és differenciálódása. Különböző módszerekkel határoltuk be az adott fejlődési stádiumban a vérsejtek osztódásának és sejsors-meghatározásának pontos helyét.

Kísérleteink eredményeként egy új, önmegújító, vérsejt előalakokat tartalmazó, eddig nem jellemzett szövetet azonosítottunk, mely a lárvális vérsejtképzésnek a fő, ha nem az kizárólagos anatómiai helye. Ez a szövet jól körülírható, jellegzetes anatómiai lokalizációt mutat, mely az egyed különböző fejlődési stádiumaiban eltérő fiziológiai sajátságokkal rendelkezik.

Immun_1

A mikroRNS-ek szerepének vizsgálata az LPS indukálta jelátviteli mechanizmus gátlásában

Fekete Tünde

Debreceni Egyetem, Molekuláris biológus szak

Témavezetők: Dr. Rajnavölgyi Éva, Dr. Réthi Bence

A dendritikus sejtek (DC) a leghatásosabb és legsokoldalúbb hivatásos antigén prezentáló sejtek, melyek képesek az adaptív immunválasz és a saját sejtekkel szembeni tolerancia kialakítására és fenntartására. A lipopoliszacharid (bakteriális endotoxin) a Gram-negatív baktériumok külső membránjának egyik fő alkotója és a leghatásosabb gyulladást kiváltó faktor, mely hatására a dendritikus sejtek aktiválódnak.

Vizsgálataink célja a citokinek által indukált monocita eredetű DC differenciáció különböző szakaszaiban alkalmazott egyszeri és ismételt bakteriális lipopoliszacharid aktiváció hatásának összehasonlító vizsgálata volt. E célból perifériás vér monocitáiból GM-CSF és IL-4 citokinek jelenlétében *in vitro* monocita eredetű dendritikus sejteket állítottunk elő és vizsgáltuk a monocitákhoz, valamint a 2 napos DC-ekhez adott LPS egyszeri és ismételt hatását a képződő sejtek fenotípusos és funkcionális sajátosságaira. A sejt kultúrák felülszójában mértük az aktivált DC-ek által szecernált IL-6, TNF- α és a biológiailag aktív IL-1 β pro-inflammatórikus citokinek, valamint a T-sejt polarizációt elősegítő IL-10 és IL-12 citokinek koncentrációját enzim immunoassay (ELISA) módszerrel.

A mikroRNS-esek szabályozó szerepének kimutatására valós idejű kvantitatív polimeráz láncreakció (Q-PCR) segítségével mértük a miR146a és a miR155 kifejeződését.

Immun_1

Ételadalékok által kiváltott valódi allergia vizsgálata

Haluszka Dóra
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Kenderessy-Szabó Anna

Az allergiás tünetekkel rendelkező betegek száma – világszerte - évről-évre emelkedik. A jól ismert gyógyszer, virágpór, élelmiszer, stb. által kiváltott allergia mellett számolnunk kell, az utóbbi évtizedekben egyre nagyobb mennyiségben alkalmazott élelmiszer adalékokkal szemben kialakult allergiás történésekre is. Az ételadalékok kismolekulájú kémiai szerek, amelyekre elsősorban pszeudoallergia kiváltása jellemző. A szakirodalomból ismert tény azonban, hogy elsősorban az azofestékek, valódi allergiát is okozhatnak. Ezek a mesterséges színezékek számos gyógyszerben, vitamin tablettában is előfordulnak.

Jelen munkánkban 319 beteget vizsgáltunk, akiknél a tünetek hátterében élelmiszer adalékkal szembeni túlérzékenységet feltételeztünk. A betegeknek bőr, valamint gastrointestinális tünetek voltak. A tünetek alapján - a statisztikai kiértékeléshez - három csoportot állítottunk fel. Az első csoportba soroltuk azokat a személyeket, akiknél az élelmiszer adalékok mellett, felmerült ételallergia lehetősége is, a második csoportba azokat, akiknél gyógyszerallergia lehetősége sem volt kizárható. A harmadik csoportba azokat a személyeket soroltuk, akiknél csak az élelmiszer adalékok merültek fel az allergiás tüneteket kiváltó tényezőként. Vizsgálatainkat limfocita transzformációs teszttel végeztük, Tartrazine (E102), Benzoesav (E210), Gumiarabikum (E414), Quinoline yellow (E104), Sunset yellow (E110) és Szalicilsav irányában.

Az első csoportban 159 beteget vizsgáltunk. 29 esetben kaptunk pozitív eredményt egy, vagy több élelmiszer adalékkal szemben, ami a vizsgált betegek 18,2%-t jelenti. Ebben a csoportban ételallergiát vizsgáló, negatív eredményű teszt mellett, a betegek 15%-nál élelmiszer adalék által kiváltott allergiát tudtunk kimutatni. 65 beteg esetében, akiknél gyógyszerérzékenység gyanúja is felmerült, 8-nál mutattunk ki egy vagy több adalékkal szembeni pozitívítást (12,3%). A harmadik csoportban (73 fő), 9 esetben kaptunk pozitív eredményt (12,3%). Leggyakrabban az étel és gyógyszer színezékként alkalmazott azofestékekkel (Tartrazine, Quinoline yellow, Sunset yellow) kaptunk pozitívítást. Szalicillel szemben 21 beteget vizsgáltunk, 21 esetben pozitív eredménnyel (8%). Kontroll csoportunk 22 főből áll, akik anamnézise allergia szempontjából negatív. Ezeknél a személyeknél minden élelmiszer adalékkal szemben negatív eredményt kaptunk.

Eredményeink felhívják a figyelmet arra, hogy az élelmiszer adalékok valódi allergiát is okozhatnak. Külön jelentőséggel bír, hogy a vizsgálatok elvégzéséhez *in vitro* módszert alkalmaztunk, így a vizsgált személyre veszélytelen, mivel nem szenzibilizálhatjuk a betegeket.

Immun_1

**Immunkomplex-kötő receptorok megjelenése és szerepe emberi
memória B-sejteken**

*Kremlitzka Mariann Renáta
Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak*

Témavezető: Dr. Erdei Anna

Az immunológiai memória gyors és hatékony védelmet biztosít a szervezetbe ismételten bekerült antigénekkal szemben. Az immunkomplex-kötő Fc γ - és komplement receptorok (CR1, CR2) a B-sejt receptoron (BCR) megindított jelátviteli folyamatok modulációján keresztül nagymértékben befolyásolják a memória B-sejtek effektor funkcióit.

Kísérleteink során vizsgáltuk az Fc γ RII, a CR1 és CR2 sejt felszíni kifejeződésének mértékét perifériáról és mandulából izolált CD27⁻ (naív) és CD27⁺ (memória, csíráközpont B-sejtek és plazmablasztok) B limfocitákon. Megállapítottuk, hogy perifériás memória B-sejteken az Fc γ RII és CR1 expressziós mintázata hasonló és megnövekedett mértékű a naív B limfocitákhoz képest, eltérően a CR2-től. Ugyanakkor ezen receptorok kifejeződése minimális mértékű a CD19⁺/CD27^{high}/sIg^{low} plazmablaszt populáción. Mandulából származó CD27⁺ B-sejteken aktiváció hatására nagymértékben csökken az Fc γ RII és CR1 sejt felszíni megjelenése, szemben a CR2-vel, míg perifériáról izolált B-memóriasejteken az aktiváltsági állapot nem befolyásolja az Fc γ RII és CR1 expresszióját.

Funkcionális vizsgálataink során kimutattuk, hogy a CR1 kereszt kötése dózisfüggően gátolja a mandulából izolált CD27⁻ és CD27⁺ B-sejtek BCR-indukált osztódását, ugyanakkor a sejtek IgM izotípusú ellenanyag-termelésére nincs hatással. Adataink szerint a receptor kereszt kötése aggregált C3-mal dózisfüggően gátolja a sejtek IL-10 citokin termelését.

Ezen eredményeink alapján célunk, hogy tisztázzuk a CR1 kereszt kötésének plazmasejt differenciációban betöltött szerepét, valamint az Fc γ RIIb és a BCR kereszt kötésének funkcionális hatásait. Tervezzük továbbá e receptorok funkciójának vizsgálatát szisztémás lupusz eritematosusban szenvedő betegek perifériás B-memóriasejtjei esetében is.

Immun_1

C3 komplementfehérje hatása egér dendritikus sejtek érésére és funkcióira

Paréj Katalin

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Bajtay Zsuzsa

Szervezetünkben a makrofágok és a dendritikus sejtek (DC) fontos szerepet játszanak az immunválasz kiváltásában. Mivel ezek a sejtek testszerte mindenütt jelen vannak és számos antigén felismerő receptorral rendelkeznek, igen hatékonyan azonosítják a testünkbe folyamatosan bekerülő idegen anyagokat. Az antigén felvétele aktiválja a makrofágok (MF) és DC-k funkcióit, aminek eredményeképpen azok képessé válnak az antigén feldolgozására. Ismert, hogy a testnedvekben mindenütt előforduló és a védekezésben szintén fontos szerepet játszó komplementfehérjék befolyásolják a DC-k működését. A komplementrendszer aktiválódása során a harmadik komplement fehérje, a C3 központi szerepet játszik. Vizsgálataink során ennek a fehérjének a hatását tanulmányoztuk egér DC-k érésére és működésére.

Kísérleteinkben egér csontvelőből *in vitro* DC-eket differenciáltattunk GM-CSF (granulocita-makrofág kolónia stimuláló faktor) jelenlétében, komplementforrásként normál egér savót alkalmaztunk. Áramlási citofluorimetriás vizsgálatokkal megállapítottuk, hogy a sejtek képesek megkötni a C3-at, továbbá internalizálják is a fehérjét, amint azt konfokális mikroszkópos vizsgálatokkal igazoltunk. A komplementfehérje hőinaktiválása csökkenti kötődésének mértékét, ami arra enged következtetni, hogy a kötődés túlnyomórészt kovalensen történik. Megvizsgáltuk a C3 kötődésének hatását a sejtek sejt felszíni molekuláinak expressziójára, és azt tapasztaltuk, hogy csökkent a CD86 kostimulátor molekulák mennyisége, az MHCII nem változott, a mannóz receptor szint pedig nőtt.

Ezek a változások arra utalnak, hogy a savó kezelés nem stimulálta a DC-k érését. Vizsgálva a folyamat *in vivo* jelentőségét, a DC-eket ko-kultúrában tartottuk, *in vitro* differenciált MF-kal, amely sejtekről ismert, hogy nagy mennyiségben szekretálnak a C3-t. Ezzel ellentétben a csontvelői eredetű egér DC-k nem termeltek C3-t, amit ELISA módszerrel mutattunk ki. Citofluorimetriás vizsgálattal megállapítottuk, hogy a DC-k képesek megkötni az aktivált MF-ből származó C3-t.

Fiziológiai körülmények között a DC-k környezetében jelen lehetnek aktivált MF-k, amelyek C3 közvetített módon befolyásolhatják azok érését és működését.

Immun_1

Az oxidatív stressz hatása a humán plazmacitoid dendritikus sejtek fenotípusos és funkcionális sajátosságaira

Pázmándi Kitti Linda

Debreceni Egyetem, Molekuláris biológus szak

Témavezető: Dr. Bácsi Attila

A plazmacitoid dendritikus sejtek (pDS) az immunrendszer egyik hivatásos antigénprezentáló sejtípusát képezik, melyek fontos szerepet töltenek be az adaptív immunválasz gyulladás, vagy ellenanyag termelés irányába történő polarizációjában és emellett jelentős antivirális hatásuk is ismert.

Kísérleteink célja az volt, hogy modellezzük a perifériás szövetek közé kilépő pDS-eken bekövetkező változásokat. A pDS-eket oxidatív stressz körülményei között vizsgáltuk, mely közeg feltehetően hasonlít azon szöveti környezethez, ahol a sejtek vírusinfekció vagy szöveti gyulladás révén keletkező reaktív oxigéngyökök hatásainak vannak kitéve.

Munkánk során arra kerestük a választ, hogy a különböző mértékű és idejű oxidatív stressz hogyan befolyásolja a Toll-like receptor (TLR) 9 agonistával aktivált illetve aktiválatlan pDS-ek fenotípusos sajátosságait és citokin termelését.

A pDS-eket humán perifériás vérből, mágneses sejtszeparálási eljárással izoláltuk. Az oxidatív stressz körülményeinek előállítására xantin-oxidáz/xantin enzim-szubsztrát rendszert, valamint hidrogén-peroxidot alkalmaztunk és négy színű áramlási citometria segítségével detektáltuk a pDS-ek fenotípusos válaszát oxidatív stressz hatására. A sejtek felülcsúszójából ELISA módszerrel határoztuk meg az IFN- α , IL-6 és TNF- α citokinek mennyiségét.

Megfigyeléseink szerint a pDS-ek érzékenyen reagálnak az oxidatív stresszre. Ez megnyilvánult a sejtek életképességének csökkenésében, valamint az általunk vizsgált sejtfelszíni antigének (BDCA-2, HLA-DQ, BDCA-4) kifejeződésének és a sejtek citokin termelésének csökkenésében. Megállapítottuk, hogy az oxidatív stressz felfüggeszti a TLR9 agonista pDS-ekre gyakorolt aktiváló hatását.

Kísérleteink eredményei arra utalnak, hogy a reaktív gyökökkel reagáló pDS-ek az immunválasz során a tolerancia kialakulásának kedvezhetnek, az adaptív immunválasz indukálása helyett. Ez felveti annak lehetőségét, hogy az *in vitro* körülmények között reaktív oxigéngyökökkel kezelt pDS-ek a jövőben felhasználhatók lehetnek autoimmun betegségek, vagy súlyos allergiás gyulladások kezelésére, amikor egy adott antigén elleni immunológiai tolerancia létrehozása a cél.

Immun_1

**Az ösztrogén (17 β -ösztradiol, E2) gyors, nem-genomiális hatásai T-
és B limfocitákon**

Schneider Andrea

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Matkó János

Felmérések kimutatták, hogy egyes autoimmun betegségek nagyobb gyakorisággal fordulnak elő nők körében; ez felhívja a figyelmet a 17 β -ösztradiol (E2) immunrendszerre gyakorolt hatására.

Régóta ismeretes, hogy számos sejttípusnál az E2 a hagyományos úton kívül- amikor a hormon a magi receptorhoz kötődve, mint transzkripciós faktor a génexpressziót szabályozza- nem genomiális úton is hathat, plazmamembrán receptoron keresztül, amely során gyors jelátviteli események és fiziológias változások következnek be a sejtben. Az még kérdéses, hogy a magi és membrán receptor megegyezik-e, vagy létezik valamilyen más fehérje, amely a membránban az E2 megkötéséért felelős.

Mind T, mind B limfocitán sikerült marha szérum albuminnal kovalensen kapcsolt, membrán impermeabilis ösztrogén (E2-BSA-FITC) membrán kötődését kimutatni, amit koncentrációfüggő telítési görbe jellemez. A membrán lipidek rendezettségére („packing”) érzékeny Laurdan próba fluoreszcens generalizált polarizáltságának mérésével megállapítottuk, hogy az E2 fokozza a rendezettséget, azaz csökkenti a fluiditást. Az E2-BSA és az E2 egyaránt fokozza az Akt és Erk foszforilációt, valamint a T sejtek intracelluláris Ca²⁺ szint emelkedését váltja ki. Adataink alapján az ösztrogén semmilyen hatást nem gyakorol a limfociták apoptózisára.

A fenti eredmények alapján valószínűsíthető, hogy limfocitákon is megtalálható membrán-vagy legalábbis membrán-asszociált ösztrogén receptor, melyen keresztül az E2 nem genomiális hatásait kifejtheti.

Immunológia II. tagozat

Időpont: Április 9. 15:00

Terem: N épület, 245. terem

A zsűri elnöke: **Prof. Rajnavölgyi Éva**, intézetvezető egyetemi tanár
Debreceni Egyetem, Immunológiai Intézet

tagjai: **Dr. Buzás Edit**, egyetemi docens
Semmelweis Egyetem Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai
Intézete

Dr. Koncz Gábor, tudományos munkatárs
Eötvös Lóránd Tudományegyetem, MTA-ELTE
Immunológiai Kutatócsoport

15:00	Bacsikai Ildikó	DE TTK	Monocitából differenciáltatott dendritikus sejt alpopulációk mátrix metalloproteináz expressziójának vizsgálata
15:20	Marton Annamária	SZTE TTIK	A penetratin sejtpenetráló peptid immunmoduláló hatásának <i>in vivo</i> és <i>in vitro</i> vizsgálata
15:40	Szarka Eszter	ELTE TTK	Szintetikus citrullinált peptidek felhasználása a rheumatoid arthritis korai diagnosztizálásában
16:00	Varga Rita Éva	DE TTK	TLR3 és TLR4 szerepének vizsgálata monocita eredetű dendritikus sejtek aktivációjára
16:20	Végh Lea	SZTE TTIK	Egyedi aminosavak cseréjének hatása a galektin-1 funkciójára

Immun_2

Monocitából differenciáltatott dendritikus sejt alpopulációk mátrix metalloproteináz expressziójának vizsgálata

Bacskaï Ildikó

Debreceni Egyetem, Biológus-biotechnológus szak

Témavezető: Dr. Kis-Tóth Katalin

A mátrix metalloproteinázok (MMP-k) olyan cinkfüggő endopeptidázok, melyek a kollagén tartalmú szövetek, elsősorban az extracelluláris mátrix folyamatos megújításában és átalakításában, valamint a sejtek migrációjában játszanak szerepet. A szöveti MMP inhibitorok (TIMP-ek) természetes gátlószerei az MMP enzimeknek. Az MMP-TIMP rendszer finom szabályozásában bekövetkező kedvezőtlen változások patológiás állapothoz vezethetnek. A dendritikus sejtek (DC-k) alapvető szerepet játszanak az immunrendszer mozgósításában, valamint a természetes és szerzett védelmi rendszerek összehangolt működésének irányításában. Korábbi vizsgálatok igazolták, hogy a DC-k MMP-eket és TIMP-eket is termelnek, melyek szerepet játszanak ezen sejtek migrációjának szabályozásában.

Kísérleteinkben a monocitából differenciáltatott DC-k és alpopulációik MMP és TIMP expressziójának szisztematikus vizsgálatát végeztük el génszinten és fehérjeszinten.

Kimutattuk, hogy a monociták nem fejeznek ki MMP-eket, TIMP1 és TIMP2 géneket viszont nagy mennyiségben. A monocitából differenciáltatott DC-k MMP9 és MMP12 expressziója növekszik az érés során, ezzel párhuzamosan a TIMP1 és TIMP2 expresszió csökken. Az MMP9 gént elsősorban a CD1a negatív DC alpopuláció, míg az MMP12-t a CD1a pozitív sejtek fejezik ki. Ezekre a folyamatokra a differenciációs citokinek közül elsősorban a granulocita-monocita kolónia stimuláló faktor, a tumoraktiváló gyulladáshoz köthető citokinek közül pedig az interleukin-1 nekrozis faktor van – közvetlen vagy közvetett génexpressziós szabályozáson át – hatással. Génszintű eredményeinket az MMP9 esetében a szekretált enzim mennyiségének vizsgálataival is megerősítettük.

Reményeink szerint eredményeinkkel hozzájárultunk az MMP-TIMP rendszer jobb megismeréséhez DC-kben. Kísérleteinket tovább kívánjuk folytatni funkcionális irányban.

Immun_2

A penetratin sejtpenetráló peptid immunmoduláló hatásának *in vivo* és *in vitro* vizsgálata

Marton Annamária
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Vizler Csaba, Dr. Boros Imre

A sejtpenetráló peptidnek olyan kationos peptidnek, amelyek képesek a sejtmembránon átjutni, ezáltal alkalmasak a hozzájuk kötött molekulák intracelluláris célba juttatására. A jelenség egyik lehetséges felhasználása gyógyszerek célbajuttatása lehet. Ebben az esetben fontos lehet a sejtpenetráló peptid biológiai aktivitásának megismerése. A Magyar Tudományos Akadémia Szegedi Biológiai Központja és Szegedi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Orvosi Vegytani Intézetének együttműködése alapján korábban kiderült, hogy a drosophila antennapedia sejtpenetráló peptidnek (penetratin) önmagában is immunmoduláló hatása van, amelyet valószínűleg a nukleáris faktor-kappa B (NF-kB) gátlásán keresztül valósít meg, ami lipopoliszahariddal stimulált makrofág sejtvonalakon figyelhető meg. Ezzel összhangban a peptid egy NF-kB-függő gyulladási modellben, patkányokban kiváltott kolecsisztokinin-indukálta kísérletes pankreatitiszben is hatásosnak bizonyult, gátolta a pankreatitisz kialakulását.

Ez alapján elképzelhető volt, hogy a peptidet hasonlóan hatásosnak találjuk a szklerózis multiplex állatmodelljében, allergiás encephalomyelitisben is (EAE). Ennek jelentőségét az adná, hogy a szklerózis multiplex a mai napig egy gyógyíthatatlan autoimmun betegség.

A várt eredményekkel ellentétben a penetratinnal kezelt állatok állapota súlyosbodott. Az EAE súlyosbodása nem magyarázható az NF-kB gátlásával. Hogy megismerhessük a penetratin peptid további immunmoduláló hatásait, sejtes immunoesszéket és citokinméréseket végeztünk. T-sejt proliferációs kísérletekben a penetratin csak gyenge osztódásgátló hatással rendelkezett, ez sem magyarázhatja a betegség súlyosbodását. A szer gyakorlatilag hatástalannak bizonyult NK (természetes ölő sejt) citotoxicitási tesztekben is. A penetratin meglepő módon *in vitro* makrofág-aktivációt idézett elő. Penetratinnal kezelt Raw 264.7 egérmakrofágok esetében számos citokin termelődésének változását észleltük. A penetratin képes volt olyan gyulladási citokinek termelődését indukálni, mint az EAE kialakulásában kulcsszerepet játszó tumor nekrozis faktor alfa.

Eredményeink az mutatják, hogy a sejtpenetráló peptid tervezett klinikai felhasználását részletes immunológiai vizsgálatok kell, hogy megelőzzék. Különös figyelmet kell fordítani erre a jelenségre sejtpenetráló peptid alapú gyógyszerek felhasználásánál autoimmun betegségre hajlamos, vagy abban szenvedő páciensek esetében.

Immun_2

Szintetikus citrullinált peptidek felhasználása a reumatoid arthritis korai diagnosztizálásában

Szarka Eszter

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Sármai Gabriella

A reumatoid arthritis (RA) szisztémás autoimmun betegség, amely a magyar lakosság 1%-át érinti. Kifejlődésének hátterében az immunrendszer kóros működése áll, a keletkező autoantitestek hatására gyulladás, szöveti károsodás alakul ki. Gyógyítása sajnos ma nem lehetséges, a kezelésnek viszont számos alternatívája létezik. A gyógyszerek alkalmazásánál fő szempont egyrészt a fájdalom csillapítása, és az állapot stabilizálása, ezért fontos a betegség korai diagnosztizálása.

Újabb kutatási eredmények szerint a betegség patomechanizmusában fontos szerepet játszanak azok a normálistól eltérő fehérjék, amelyek a peptidil arginin deimidáz enzim hatására arginin helyett citrullint tartalmaznak.


Munkánkban hét, az RA-ban szerepet játszó fehérjéknek megfelelő peptideket vizsgáltunk. Szilárd fázisú peptidszintézissel Multipin Ncp kiten előállított, szintetikus peptidpárokat alkalmaztunk, melyekből az egyik arginint, a másik argininek helyett citrullint tartalmazott. Célunk az RA korai stádiumában való diagnosztizálására alkalmas, gyors és megbízható módszer beállítása volt. Kidolgoztunk egy indirekt ELISA alapú módszert, melynek segítségével RA-s betegekből és egészséges kontroll egyénekből származó szérumból minták peptid felismerését hasonlítottunk össze.

Eredményeink szerint az RA betegek széruma a kontroll mintákkal összehasonlítva jelentősen nagyobb kötődést mutatott a filaggrin 5 és filaggrin 15 citrullinált peptidhez. Ez a továbbiakban alapja lehet az RA diagnosztizálásra alkalmas kit előállításának.

Immun_2

TLR3 és TLR4 szerepének vizsgálata monocita eredetű dendritikus sejtek aktivációjára

Varga Rita Éva
Debreceni Egyetem, Molekuláris biológus szak

Témavezetők: Dr. Gogolák Péter, Dr. Rajnavölgyi Éva 

A fertőzések következtében a szervezetbe jutó patogének az immunrendszer sejtjeit többféle patogén asszociált molekuláris mintázatot (PAMP) felismerő receptoron keresztül is aktiválhatják. Ezek egyik legjelentősebb csoportját alkotják a Toll-szerű receptorok (TLR).

Kísérleteinkben emberi monocitákból előállított, funkcionálisan eltérő CD1a⁻ és CD1a⁺ altípusokra szeparált dendritikus sejtek (DS) Toll-szerű receptorokon keresztüli aktiválásának hatásait vizsgáltuk. A sejteket a Toll-like receptor-3 (TLR3) virális duplaszálú RNS-t mimikáló mesterséges ligandumával (POLY (I:C)) és Toll-like receptor-4 (TLR4) bakteriális eredetű lipopoliszaharid ligandumával (LPS) aktiváltuk. A DS aktiváció mértékét sejtfelszíni érési (CD83, CCR7) molekulák megjelenése és a termelődő citokinek (TNF- α , IL-12, IL-10, IL-6) koncentrációja alapján hasonlítottuk össze. Eredményeink szerint a CD1a⁺ sejtek mindkét aktivációs hatásra jobban aktiválódtak, mint a CD1a⁻ sejtek: több, az immunválasz további lefolyását alapvetően meghatározó IL-12, TNF- α , és IL-6 termelésre voltak képesek. A CD1a⁻ sejtek LPS hatására viszont több „gátló” IL-10-et termeltek.

Az eltérések magyarázata céljából vizsgáltuk az aktivációs jelpályák elemeinek különbségét is a két DS populációban. Valós idejű Q-PCR segítségével kimutattuk, hogy a TLR3 mRNS expresszió magasabb a CD1a⁺, mint a CD1a⁻ sejtek esetében. Ez megmagyarázhatja a POLY (I:C) esetében tapasztalt aktivációs különbséget. A CD1a⁻ sejtek viszont nagyobb mértékben expresszálják a TLR4 mRNS-t, mint a CD1a⁺ sejtek, ami felveti, hogy ennél a jelpályánál egyéb hatások is közrejátszhatnak a CD1a⁺ sejtek hatékonyabb aktivációjában. A LPS receptor összetett receptorkomplexéhez tartozó LPS-kötő fehérje (LBP) mRNS-ét nem tudtuk detektálni egyik populációban sem. A CD14 receptor kifejeződésében viszont találunk eltéréseket a CD1a⁻ és CD1a⁺ sejtek között. A sejtfelszíni CD14 alacsony szintű jelenléte csak a CD1a⁻ sejteken volt kimutatható, és ezek a sejtek képesek az oldott CD14 (sCD14) nagyobb mértékű termelésére is.

Mivel a bakteriális és virális fertőzések gyakran együtt vannak jelen a szervezetben, ezért vizsgáltuk a két TLR egymásra hatását is. Bakteriális LPS hatására a TLR3 mRNS expresszió fokozódik a CD1a⁺ sejteken. Viszont a TLR4 mRNS expresszió mindkét populációban lecsökken az LPS és a POLY (I:C) hatására.

A DS alpopulációk különböző ingerekre adott eltérő válaszadási képességének megismerésével kedvező feltételeket teremthetünk a jövő korszerű vakcináinak előállításához.

Immun_2

Egyedi aminosavak cseréjének hatása a galektin-1 funkciójára

Végh Lea

Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Monostori Éva, Dr. Kiss-Tóth Endre, Dr. Boros Imre

A galektin-1 (Gal-1) egy állati szénhidrát-kötő lektin család, a galektinek egyik leginkább tanulmányozott tagja. Mint lektin, affinitást mutat a béta-galaktózt tartalmazó oligoszacharidok, illetve glikokonjugátumok (glikoproteinek, glikolipidek) irányába. Az egy polipeptid láncból álló Gal-1 egy szénhidrát felismerő domaint tartalmaz, és a feltételezés szerint dimerként fordul elő. Egy japán kutatócsoport a 1990-es évek elején több pontmutáns Gal-1-et is előállított, és bebizonyította, hogy a magas szinten konzervált szénhidrát kötő régió bizonyos aminosavai (AS) felelősek a cukorkötés kialakításért. Ezen AS-ak mutációja az affinitás elvesztésével járnak, míg a cisztein AS-ak a fehérje stabilitásában játszanak szerepet.

A Gal-1 biológiai funkciói közül (sejt-sejt közötti adhéziós kapcsolatok, a sejtek életképessége és differenciálódás szabályozása) gyulladáscsökkentő hatásának vizsgálata áll laboratóriumunk érdeklődésének központjában. Vizsgálataink arra irányulnak, hogy kijelölt AS-ak mutációi hogyan befolyásolják a Gal-1 működését.

Eddigi munkánk folyamán megfelelő eukarióta expressziós vektorba klónoztuk a mutáns Gal-1 fehérjét kódoló cDNS-eket, hogy a későbbiekben különböző sejtvonalakba transzfektálva vizsgálhassuk hatásukat. A stabil transzgenikus sejtvonalak létrehozásához HeLa sejteket használtunk. A sejtvonalak T sejtekre kifejtett apoptotikus hatását kokultúrás (tumor sejt és T sejt együtt tenyésztve) rendszerben vizsgáltuk, és azt tapasztaltuk, hogy a Gal-1-et nem expresszáló vagy alacsony szinten expresszáló HeLa sejtek szignifikánsan kisebb mértékű apoptózist okoztak, mint a sok Gal-1-et expresszáló klónok.

Ezen felül, HUVEC sejteket (human köldökvén véna primer endotél sejtek) is transzfektáltunk, hogy megvizsgálhassuk a Gal-1 endotél sejtek gyulladáscsökkentő hatásában játszott szerepét. A HUVEC sejtekben transzgenikusan túlermeltetett vad típusú és monomer Gal-1 (C2SV5D) hatását analizáltuk a sejtfelszíni gyulladásjelző marker, az E-szelektin szintjének változásán keresztül. A gyulladáscsökkentő ingerek (interleukin-1) által kiváltott sejtfelszíni E-szelektin expresszióját FACS segítségével vizsgáltuk, és kísérleteink folyamán bebizonyosodott, hogy mind a vad típusú, mind a monomer Gal-1 csökkenti ezen marker mennyiségét.

Mikrobiológia I. tagozat

Időpont: Április 8. 15:00

Terem: N épület, 110. terem

A zsűri elnöke: **Prof. Emőd Levente**, egyetemi tanár
Pécsi Tudományegyetem, Orvosi Mikrobiológiai és
Immunitástani Intézet

tagjai: **Dr. Csitári Gábor**, tanszékvezető egyetemi docens
Pannon Egyetem, Növénytudományi és
Biotechnológiai Tanszék

Dr. Márialigeti Károly
tanszékvezető egyetemi docens
Eötvös Loránd Tudományegyetem, Mikrobiológiai
Tanszék

15:00	Bencsik Ottó	SZTE TTIK	Egy biológiaiilag aktív extracelluláris metabolit termelésének vizsgálata fonalas gombákban
15:20	Horváth Péter Ferenc	SZTE TTIK	Mitokondriális genom polimorfizmus vizsgálata <i>Lodderomyces elongisporus</i> törzsekben
15:40	Kiss András, Bánfai Zsolt	PTE TTK	A patulin oxidatív stressz indukáló hatásának vizsgálata <i>Schizosaccharomyces pombe</i> modellorganizmuson
16:00	Korcsmár Gabriella	DE TTK	A <i>Penicillium chrysogenum</i> paf gének elterjedésének vizsgálata a <i>Penicillium</i> nemzetségben; a <i>Penicillium camambertii</i> paf gén és promoterének azonosítása
16:20	Kovács Barbara	DE TTK	Egy antifungális fehérjét, a PAF- ot jól termelő <i>Penicillium</i> faj promóterének jellemzése
16:40	Szünet		
16:50	Kovács Laura	SZTE TTIK	Antimikrobiális fehérjét termelő <i>Neosartorya fischeri</i> izolátum vizsgálata
17:10	Kőszegi Balázs	PTE TTK	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> lipidmutánsok oxidatív stresszérzékenységének vizsgálata
17:30	Pfliegler Valter Péter	DE TTK	A fokozatos genom stabilizáció vizsgálata a <i>Saccharomyces cerevisiae</i> és <i>Saccharomyces uvarum</i> élesztőfajok fertilis hibridjei és azok utódnemzedékeinek analízise során
17:50	Szén Orsolya, Mészáros Janka	EKF TTK	Prebiotikumok probiotikus baktériumokra gyakorolt hatásának vizsgálata hagyományos módszerekkel és PCR technikával

MikroBiol_1

Egy biológiailag aktív extracelluláris metabolit termelésének vizsgálata fonalas gombákban

Bencsik Ottó

Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Papp Tamás, Dr. Szekeres András

A *Bipolaris* nemzetség (Ascomycota, Euascomycetes, Pleosporales, Pleosporaceae) számos növénypatogén gombát foglal magába. Az idetartozó gombák elsősorban fűfélékből, növényi maradványokból és talajból származó mintákból izolálhatók, egyes fajukat opportunistáknak is leírták. A nemzetség tagjai számos terpén típusú másodlagos metabolitot termelnek, melyek közül jelentőségüket tekintve is kiemelkednek a szeszterterpén típusú metabolitok. Ezek kezdetben, mint fitotoxinok váltak ismertté, később antimikrobiális, baktericid, fungicid, nematocid sajátosságait is feltárták. Noha már több szeszterterpén termelésre képes fajt leírtak, a termelés körülményeit és a termelt metabolitokat illetően csak igen kevés információ áll rendelkezésre. Jelen munkának két fő célkitűzése volt: egyrészt, hogy alkalmas módszert dolgozzunk ki a szeszterterpén spektrum összetételének és a termelt toxinok mennyiségének vizsgálatára, másrészt, hogy különböző *Bipolaris* fajokat reprezentáló, nagyszámú törzs bevonásával elemezzük a termelés kinetikáját és hőmérsékletfüggését, valamint megkezdjük az egyes toxin komponensek azonosítását és antimikrobiális hatásuk tanulmányozását.

Munkánk eredményeként kidolgoztunk egy a szeszterterpének detektálására és mennyiségi meghatározására alkalmas izokratikus HPLC módszert és megállapítottuk a minimális detektálási és mennyiségi meghatározási értékeket is. 16 pontos kalibráció készítésekor a standardok mennyisége és a detektált jel lineáris összefüggést mutattak, a csúcstisztságot minden minta esetében ellenőriztük a két hullámhosszon mért mennyiségek arányával. Elsőként 22 faj 36 különböző törzsének toxintermelését vizsgáltuk meg. Négy különböző hőmérsékleten, hat napon át történő tenyésztés során napi mintavételezéssel mértük a fő szeszterterpén metabolit mennyiségét a fermentléből. A mérések során megállapítható volt, hogy a termelt mennyiség törzstől függően az ötödik vagy a hatodik napon volt a legmagasabb, ugyanakkor majd minden esetben eltérő volt a szekréció kinetikája és a mért mennyiség. Az egyes törzsek esetében eltérő hőmérsékletfüggést tapasztaltunk. Sikerteljesen kiemelkedően jó termelő törzseket is azonosítani. Megkezdjük az egyéb komponensek tisztítását és azonosítását és az eddig tisztított szeszterterpén származékokkal teszteltük ezen anyagok antimikrobiális aktivitását is.

MikroBiol_1

Mitokondriális genom polimorfizmus vizsgálata *Lodderomyces elongisporus* törzsekben

Horváth Péter Ferenc
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Pfeiffer Ilona

A mitokondriumok az eukarióta sejtek egyik legelterjedtebb sejtalkotója. Alakjuk, méretük és felépítésük fajoként különböző. Fő funkciójuk az oxidatív foszforiláció folyamatának fenntartása. Szemiautonóm sejtorganellumok, saját genetikai anyaggal rendelkeznek, de némely mitokondriális fehérjét sejtmagi gén kódol. A tipikus mitokondriális DNS cirkuláris szerkezetű, de számos faj ismert, mely lineáris szerkezetű mitokondriális genommal rendelkezik. A genom mérete 6 és 2000 kb közt változik, kódolja az oxidatív foszforiláció számos proteinjét, riboszómális RNS-eket és néhány riboszómális fehérjét valamint tRNS-eket.

Az Ascomycota élesztők Saccharomycetales rendjének *Candida albicans* kládja főként opportunista humán patogén gombákat foglal magába. Fiziológiásan mint a normál humán flóra mikroorganizmusai vannak jelen, de kóros esetekben súlyos megbetegedéseket okozhatnak. A kládban szereplő fajok mitokondriális genom szerveződésében jelentős különbségeket találunk. *C. albicans* törzsekben cirkuláris, *Candida parapsilosis* törzsekben lineáris, míg *Candida orthopsilosis* törzsek esetén lineáris valamint cirkuláris mtDNS egyaránt megfigyelhető. A *Lodderomyces elongisporus* előzetes eredmények alapján a *C. parapsilosis* teleomorf alakjának bizonyult. Anamorf fajokban mitokondriális DNS polimorfizmust főként pontmutációk okozhatnak, míg teleomorf fajokban a mitokondriális DNS rekombináció jelensége is megfigyelhető.

Munkánk során mitokondriális DNS polimorfizmust vizsgáltuk nyolc *Lodderomyces elongisporus* törzsben. RFLP analízist végeztünk restriktív enzimekkel, melynek eredményeként négy típusba különítettük el a törzseket az izolált mtDNS RFLP mintázata alapján. A törzsek mitokondriális genom mérete 28 és 36 kb közt változik. Elkészítettük a négy típusba tartozó egy-egy törzs fizikai és funkcionális térképét.

A fizikai térkép elkészítéséhez HincII és EcoRI enzimeket választottunk. A megemésztett DNS darabokat pBluescript II SK (+/-) vektorba ligáltuk, majd *E. coli* sejtekbe transzformáltuk. A teljes térkép összeállításához ezen két enzimmel kettős emésztést alkalmaztunk a klónozott darabokon. A funkcionális térkép elkészítéséhez Southern hibridizációt alkalmaztunk DIG jelölt heterológ *C. albicans* génpróbákkal, ezáltal 11 gén pozícióját azonosítottuk.

Eredményeink jelentős génátrendeződéseket, valamint a restriktív hasítási helyek nagymértékű megváltozását mutatják az egyes típusok esetén, amelyek az ivaros folyamatok során fellépő rekombinációs eseményekkel magyarázhatóak.

MikroBiol_1

**A patulin oxidatív stressz indukáló hatásának vizsgálata
Schizosaccharomyces pombe modellorganizmuson**

Kiss András, Bánfai Zsolt
Pécsi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Pesti Miklós, Papp Gábor

A patulin fonalgombák által termelt mikotoxin, amely gazdasági jelentőségét főként az almalevekben való gyakori előfordulásának köszönheti. Teratogén, citotoxikus és genotoxikus hatású, ezért nagy az igény hatékony detoxifikációs módszerek kifejlesztésére. Ennek előfeltétele a sejtre gyakorolt hatásmechanizmusának ismerete. A patulin elsődleges támadási pontja a sejt -SH csoportot tartalmazó peptidjei, amelyekben intra- és intermolekuláris kovalens keresztkötéseket hozhat létre. Vizsgálatainkhoz a *Schizosaccharomyces pombe* (ura4D18 h-) törzset használtuk, amely kiváló modellszervezete a genetikai és mikrobiológiai kutatásoknak.

Mikrodilúciós módszerrel meghatároztuk a patulin minimális gátló koncentrációját, amely 3,08 μM -nak adódott. Meghatároztuk 10, 30, 50 és 500 μM patulin koncentrációk mellett a pusztítási görbéket, mely szerint a 60 percig tartó 500 μM -os kezelés teljes sejtpusztulást okozott. A ciszteint tartalmazó glutation az oxidatív stresszel szembeni nem enzimátikus védelmi rendszer fő eleme. Megvizsgáltuk a glutation oxidált (GSSG) és redukált (GSH) formájának intracelluláris koncentrációját. 60 perces, 500 μM -os patulin kezelés hatására a GSH és a GSSG szintje rendre mintegy kétharmadára, illetve felére csökkent. Meghatároztuk a reaktív oxigén gyökök közül a $\text{O}_2^{\cdot-}$, illetve a H_2O_2 relatív koncentrációját, amelyek a normál aerob metabolizmus során keletkeznek, de a szintjük oxidatív stressz hatására emelkedik. A H_2O_2 és $\text{O}_2^{\cdot-}$ intracelluláris koncentrációja 1000 μM patulin kezelés hatására rendre 2,8-szeresére és 2,4-szeresére növekedett. A méréseket a korábbi vizsgálati módszereink továbbfejlesztésével, azonos környezeti paraméterek mellett mindkét esetben áramlási citométerrel végeztük. Vizsgáltuk továbbá, hogy milyen mértékben kötődik meg a patulin az élesztősejtekben. Kimutattuk, hogy a pufferoldatban beállított 500 μM patulin koncentrációja 1/5-vel csökkent 2 óra elteltével, 10^8 sejt ml^{-1} esetén. A tanszéken végzett korábbi kísérletek kimutatták, hogy a patulin növeli a plazmamembrán fluiditását. A membrán-dezintegráló hatását a patulin kezelést követően a sejtől kiáramló és $\lambda=260$ nm-en abszorbeáló anyagok detektálásával mutattuk ki, amely patulin koncentráció függőnek mutatkozott.

A H_2O_2 koncentrációjának növekedését élesztőben a GSH intracelluláris koncentrációjának növekedése kíséri. A tapasztalataink ennek ellent mondanak, amely azt sugallja, hogy a patulin a sejtbe jutást követően indirekt módon, a GSH-t illetve az -SH csoport tartalmú antioxidáns enzimeket inaktíválva okoz oxidatív stresszt. Ezen túl a patulin kölcsönhatásba léphet a membránfehérjékkel is, amelynek hatására a sejtmembránban bekövetkező szerkezeti változások az oxidatív stresszel együtt okozhatják a sejtek pusztulását.

MikroBiol_1

A *Penicillium chrysogenum* paf gének elterjedésének vizsgálata a *Penicillium* nemzetségben; a *Penicillium camambertii* paf gén és promotérének azonosítása

Korcsmár Gabriella

Debreceni Egyetem, Molekuláris biológus, Angol szakfordító szak

Témavezetők: Lukács Gyöngyi, Dr. Leiter Éva, Dr. Pócsi István

Tanszékünkön 2000 óta folynak kutatások a *Penicillium chrysogenum* által termelt kis móltömegű antifungális fehérje, a PAF hatás spektrumának, hatásmechanizmusának leírásával kapcsolatban. A PAF-ról már sok adat áll rendelkezésünkre. Számos humán patogén (pl. *A. fumigatus*) és növényi patogén gomba (*B. cinerea*, *F. oxysporum*) növekedését gátolja. A fehérje szélsőséges körülmények között is stabil, mely kis molekulatömegének, diszulfid hidakkal stabilizált kompakt szerkezetének köszönhető.

Eddigi eredményeink azt mutatják, hogy a PAF minden bizonnyal receptor(ok)hoz kötődik az érzékeny gombákban, aktivál egy heterotrimer G-proteinnel kapcsolt jelátviteli útvonalat, mely a PAF-re érzékeny gombákban a membránok hiperpolarizációját, mitoptózist és végső soron programozott sejthalált eredményez. Mivel a PAF nem mutatott toxicitást számos emlős és humán sejtvonalon, ezért alkalmas lehet humán gyógyászati és növényvédelmi célú felhasználásra.

Kísérleteinket kiterjesztettük számos, egyéb PAF-hoz hasonló, antifungális hatású fehérje, illetve azokat kódoló gének vizsgálatára. Számos a *Penicillium* nemzetséghez tartozó faj (9) paf-hoz hasonló génjét amlifikáltuk és szekvenáltattuk. Minden esetben kimutattunk a vizsgált fajokban a paf gén intronokat is tartalmazó szakaszával 100 %-os homológiát mutató génszakaszt. A *P. roqueforti*-ban és *P. camembertii*-ben azonban még egy paf cDNS-sel teljesen megegyező terméket is kaptunk. A genomban mindig megtalálhatóak olyan DNS szakaszok, melyek RNS-ek reverz transzkripciójával keletkeztek, majd beépültek a kromoszómába. Ezek az ún. retroszekvenciák. Mivel az RNS-ek a genomban normálisan jelenlévő génekről képződtek, a retroszekvenciák lényegében ezen gének intronmentes változatai. Általában működésképtelenek, ugyanis a gének transzkripciója során a génhez tartozó szabályozó régiók nem kerülnek transzkripcióra, az RNS-ről szintetizálódó cDNS-ben sem lesznek jelen. Így tulajdonképpen a paf cDNS is egy retroszekvenciának tekinthető. Feltételeztük, hogy a paf cDNS jelenlétét ezekben a fajokban retrovirális vagy retrotranszpozon elemek reverz transzkriptázai okozzák, melyeket megpróbáltunk kimutatni degenerált primerek használatával, sajnos sikertelenül.

Inverz PCR módszerrel vizsgáltuk a paf cDNS kópiaszámát a genomban, melyet szeretnénk megerősíteni Southern blot technikával is. TAIL PCR-rel pedig megállapítottuk, hogy a promóter valóban a paf intronokat is tartalmazó szakasza előtt található. A TAIL PCR-rel sikerült a *P. camembertii* paf-promóter szakaszát is felamplifikálni, mely kis mértékben eltér a *P. chrysogenum* paf-promóterétől, mely magyarázhatja ennek a fajnak a kis mértékű PAF termelését.

MikroBiol_1

Egy antifungális fehérjét, a PAF-ot jól termelő *Penicillium* faj promóterének jellemzése

Kovács Barbara

Debreceni Egyetem, Molekuláris biológus, Angol szakfordító szak

Témavezetők: Lukács Gyöngyi, Dr. Leiter Éva, Dr. Pócsi István

Fonals gombákban eddig négyféle antimikrobiális fehérjét találtak: *Aspergillus niger*-ben az Anafp-t, *A. giganteus*-ban az AFP-t, *Penicillium nalgiovense*-ben a NAF-ot és *P. chrysogenum*-ban a PAF-ot. Mindegyik fehérjét a gombák az extracelluláris térbe ürítik, kisméretűek, szerkezetüket diszulfid hidak stabilizálják, erősen bázikusak és más fonals gombák növekedését gátolják. Ugyanakkor nagyon kevés adat áll rendelkezésünkre ezen fehérjék termelésének szabályozásával kapcsolatban.

A paf promótere 4 CreA kötőhelyet tartalmaz, és Northern blot adatok azt igazolták, hogy a génexpresszió karbon katabolikus represszió alatt áll: azaz glükóz jelenlétében gátlódik a paf gén átírása, míg másodlagos szénforrások, pl. keményítő, szacharóz fokozzák a génexpressziót. Ez utóbbi megfigyelés jól összhangban van azzal, hogy a promóterben 2 HAP-szerű komplex kötőhely található, mely másodlagos szénforrások jelenlétében aktivál vagy represszál géneket. A promóterben található 2 AreA kötőhely nitrogén metabolikus represszióra utal: glutamin gátolta, míg NaNO₃ jelenléte fokozta a paf gén átíródását. A promóterben *in silico* analízissel még 2 stressz válaszelem kötőhelyet (STRE) és 4 feltételezett a pH szabályozásban szerepet játszó PacC kötőhelyet találtak, melyek szerepét a paf gén transzkripciójában még nem igazolták kísérletesen.

Kísérleteinket kiterjesztettük más *Penicillium* fajok PAF termelő képességének vizsgálatára is. A vizsgált fajok közül egy *Penicillium* faj nagy mennyiségben termeli a PAF-vel 100 %-ban homológ antifungális fehérjét, az eredeti termelő *P. chrysogenum* törzssel ellentétben, ezért feltételeztük, hogy ennek oka az eltérő promóterekben keresendő. Ennek bizonyítására TAIL PCR-rel amplifikáltuk és szekvenáltuk a jól termelő *Penicillium* faj paf promóterét. Ezzel a módszerrel az adatbázisban szereplő darabtól hosszabb szakaszt sikerült felszaporítanunk.

Kis mértékű eltérést tapasztaltunk a két faj paf promóterének szekvenciái között: egy AreA kötőhelyen, illetve az újonnan szekvenált szakaszban még egy CreA kötőhelyet találtunk. A vizsgált *Penicillium* faj paf gén transzkripcióját specifikus próba használatával kvantitatív PCR-rel vizsgáltuk. Megállapítottuk, hogy HgCl₂ és paraquat, mint oxidatív stresszt kiváltó anyagok jelenlétében a paf gén represszálódott a kontroll tenyészetéhez képest. Ezt a változást *P. chrysogenum*-ban nem tudtuk kimutatni.

Annak vizsgálatára, hogy a fentiekben vázolt szekvencia különbségek és génexpressziós változások mennyiben befolyásolják a fajok PAF termelő képességét, az izolált promóter felhasználásával zöld fluoreszcens protein expresszió vizsgálatát tervezzük a *Penicillium* fajok integratív transzformációját követően.

MikroBiol_1

Antimikrobiális fehérjét termelő *Neosartorya fischeri* izolátum vizsgálata

Kovács Laura

Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Vágvölgyi Csaba, Dr. Galgóczi László

Az utóbbi évtizedekben folyamatosan nőtt a mikrobiális fertőzések száma. Külön kihívást jelentenek a mikroszkopikus gombák okozta fertőzések, kezelésükre sokszor nem áll rendelkezésre a gazdaszervezetet nem károsító hatékony gyógyszeres terápia. Szükségessé vált új antifungális szerek kifejlesztése. Erre a célra megfelelhetnek azok a fonalgombák által termelt defenzinszerű fehérjék, melyek hatékonyan gátolják egyes mikroorganizmusok növekedését, fonalgombák spóráinak csírázását. Közös jellemzőjük az extracelluláris kiválasztódás, a kis molekulatömeg (5,8-6,6 kDa), a bázikus karakter, a cisztein molekulák viszonylag nagy száma és intramolekuláris diszulfid-hidak jelenléte. Génjeik promóter régióiban jellegzetes szekvenciamotívumok fordulnak elő, melyek környezeti stressz hatására termelődő fehérjék kötőhelyeit jelentik. Ilyen antifungális fehérjét négy gombafajból (*Aspergillus giganteus*, *A. niger*, *Penicillium chrysogenum* és *P. nalgiovense*) mutattak ki. A *Gibberella zeae* és a *Neosartorya fischeri* esetében egy ortológ gén jelenlétére következtetnek a genomikus adatbázisok alapján. Előnyüket jelenti a gazdaságos termeltethetőség, a könnyű tisztíthatóság, a stabilitás és emlős sejtekkel szembeni atoxicitás.

A *N. fischeri* antifungális protein (NFAP) egy, a *N. fischeri* (anamorfja: *A. fischerianus*) genomjában megtalálható szekvenciából származtatott hipotetikus antifungális protein, jelenléte csak *in silico* bizonyított. Célul tűztük ki a fehérjét kódoló gén klónozását, az NFAP hatékony termelésére alkalmas indukciós körülmények és táptalaj kidolgozását, a részlegesen tisztított NFAP antimikrobiális spektrumának és hatásának vizsgálatát. További céljaink között szerepelt a fehérje nagy mennyiségű termelésére alkalmas *Pichia pastoris* heterológ expressziós rendszer létrehozása.

Munkánk során kimutattuk az NFAP gén jelenlétét a *N. fischeri* (NRRL 181) izolátumban, stresszhatásra termelődő fehérjék kötőhelyeit azonosítottuk a promóter régióban. Ezek figyelembevételével tápközeget dolgoztunk ki az NFAP hatékony termelésére. A biológiailag aktívnak mutatkozó fermentáléban egy ~6,6 kDa méretű fehérjét azonosítottunk. A részlegesen tisztított NFAP gátolta két, tesztorganizmusként használt fonalgomba (*Trichoderma longibrachiatum*, *Aspergillus fumigatus*), egy élesztőfaj (*Saccharomyces cerevisiae*) és két Gram-pozitív baktérium (*Bacillus subtilis* és *Micrococcus luteus*) növekedését. További kísérleteinkhez az NFAP nagy mennyiségű termelésére alkalmas *P. pastoris* transzformánsokat hoztunk létre.

Az NFAP egy új, antimikrobiális hatással rendelkező protein, hatásspektumának, stabilitásának és az emlős sejtekre gyakorolt hatásának a felderítése után ígéretes jelöltnek bizonyulhat a káros mikroorganizmusok elleni védekezésben.

MikroBiol_1

***Saccharomyces cerevisiae* lipidmutánsok oxidatív
stresszérzékenységének vizsgálata**

Kőszegi Balázs
Pécsi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Pesti Miklós, Dr. Gazdag Zoltán

Célunk az oxidatív stressz indukálta plazmamembrán-változások vizsgálata *Saccharomyces cerevisiae* lipidmutáns törzseken. A kísérletekhez jól jellemzett, az ergosterol és a szfingolipid szintézisben sérült *Saccharomyces cerevisiae* törzseket használtunk. Korábbi kísérletek során meghatároztuk különböző nehézfémek és oxidatív stresszorok minimális gátló koncentrációit (MIC) a szülői és a mutáns törzsekkel szemben. A kísérleti eredmények alapján a szülői törzshöz képest a két legszélsőségebb eredményeket mutató mutánst választottunk ki a további vizsgálatokhoz. Az egyik az ERG6 jelű törzs (ergosterol szintézise sérült, a zimoszterol – fekoszterol átalakulás nem megy végbe), a másik a CSG2 jelű (szfingolipid szintézise sérült, inozitol-foszoceramid – mannóz-inozitol-foszoceramid átalakulás akadályozott).

Kísérleteink során meghatároztuk a törzsek generációs idejét, eredményeink alapján a mutáns törzsek a szülőihez képest 10-15%-al lassabban szaporodnak. Meghatároztuk különböző antibiotikumok MIC értékeit, amely alapján 5-fluorocitózinnal és primycinnel szemben a törzsek nem mutattak különbséget, vorikonazollal szemben az ERG6 mutánst érzékenyebbnek, flukonazollal szemben pedig mindkét mutánst toleránsabbnak találtuk a szülői törzsnél. Amphotericin B esetén az ERG6-os törzs kétszeres toleranciát mutatott a szülői törzssel összehasonlítva. Az oxidatív stresszorok szaporodásra gyakorolt hatását vizsgáltuk rázatott tenyészetekben. H₂O₂-al kezelt mutáns törzsek 2 mM-os koncentráció mellett a szülői törzssel ellentétben még jól szaporodtak. Menadionnal kezelve az ERG6 törzs érzékenyebbnek, míg a CSG2 toleránsabbnak mutatkozott a szülői törzsnél. Ezek után pusztítási görbét vettünk fel az oxidatív stresszorokra, egyórás kezelés hatásait vizsgáltuk.

Elkezdjük TMA-DPH jelölő segítségével vizsgálni a törzsek plazmamembrán állapotát. Az elvégzett fluorimetriás mérések során azt tapasztaltuk, hogy a plazmamembrán merevebbé vált a mutánsoknál, kifejezetten az ERG6-os törzsnél. Az oxidatív stresszorok hatására bekövetkező membránváltozások mérései folyamatban vannak.

MikroBiol_1

A fokozatos genom stabilizáció vizsgálata a *Saccharomyces cerevisiae* és *Saccharomyces uvarum* élesztőfajok fertilis hibridjei és azok utódnemzedékeinek analízise során

Pfliegler Valter Péter
Debreceni Egyetem, Molekuláris biológus szak

Témavezető: Dr. Sipiczki Mátyás

Munkánk során két, borászatilag is jelentős élesztőfaj, a *Saccharomyces cerevisiae* és a *Saccharomyces uvarum* interspecifikus fertilis hibridje utódnemzedékeinek vizsgálatát végeztük el abból a célból, hogy nyomon követhessük a két, eltérő eredetű genom génjeinek kombinálódását a hibrid utódjaiban, ezzel képet kapva a hibrid genom stabilitásáról, ill. a két genom egymáshoz való viszonyáról. Munkánk Antunovics Zsuzsa eredményein alapult, az ő általa létrehozott hibridek és azok utódainak vizsgálatát folytattuk több hibrid-törzsrre, ill. belőlük származó utódnemzedékekre kiterjesztve. A hibridek a 2005-ös kutatások alapján allotetraploidnak, az utódnemzedékek allodiploidnak bizonyultak.

A törzsek genom szintű változásaira több, különböző kromoszómákon elhelyezkedő gén ill. kromoszomális régió PCR-es ill. restrikciós analíziséből következtettünk (YCL008c, MET2, ITS1-5,8S rDNS-ITS2). Emellett elvégeztük az utódnemzedékek tetrádjai között az ún. delta-szekvenciák PCR-analízisét is.

A gének ill. kromoszómaszakaszok analízise arra enged következtetni, hogy a hibrid allotetraploid genom átalakulása allodiploiddá sokrétű, bonyolult folyamat, melynek során közös tetrádból származó törzsek között is jelentős különbségek tapasztalhatók bizonyos gének eredetét tekintve, míg más génekből gyakran csak a *S. cerevisiae* fajtól származó kópiákat találtuk az utódnemzedékekben azok genetikai állományának viszonylagos stabilizálódása után. Különösen nagy variabilitást tapasztalható közös eredetű spórák génállományában a Tyl transzpozonok két szélén található Delta szekvenciákat vizsgálva, mely összhangban áll ezen genetikai elemek mozgékony mivoltával.

Eredményeink egy elméleti megfontolásból érdekes, gyakran felmerülő, mégis ritkábban kutatott témába, a fajok közötti hibridek létrejöttébe és azok lehetséges stabilizálódásába nyújtanak betekintést; ugyanakkor a két vizsgált faj borászatban betöltött szerepét tekintve (a *S. cerevisiae* gyakorlatilag minden bor erjesztésében kulcsfontosságú, míg az *S. uvarum* faj leginkább hidegen erjesztett borok erjesztésében játszik szerepet) adataink gyakorlati szempontból is fontos folyamatokat jellemeznek, szerepük lehet új, hibrid starterkultúrák, „fajélesztők” előállításának során.

MikroBiol_1

Prebiotikumok probiotikus baktériumokra gyakorolt hatásának vizsgálata hagyományos módszerekkel és PCR technikával

Szén Orsolya, Mészáros Janka
Eszterházy Károly Főiskola, Biológia BSc szak

Témavezető: Dr. Pál Károly

A probiotikus baktériumoknak számos jótékony hatása ismert, a hasmenés és a gyulladós bélbetegségek tüneteinek enyhítésétől kezdve az immunrendszer erősítéséig. Hatásuk egyrészt rövid láncú zsírsavak előállításán alapul, másrészt baktericid hatású vegyületeket termelnek, ezáltal hatékonyan kontrollálják a vastagbélben található káros baktériumok szaporodását. A probiotikus készítmények elsősorban *Lactobacillus* és *Bifidobacterium* fajokat tartalmaznak élőflóra gyanánt, mivel a bélflóra probiotikus törzsei főként ezekből a nemzetségekből kerülnek ki. Sok esetben prebiotikus hatású anyagokat (pl. inulint) is tartalmaznak a készítmények, ugyanis ezeken az anyagokon szelektíven szaporodnak a probiotikus baktériumok, ezáltal hatékonyabban kolonizálják a vastagbelet.

Kísérleteinkben többek között arra kerestük a választ, hogy ismert prebiotikumok és feltételezeten prebiotikus hatású anyagok milyen hatással vannak az általunk modellként használt mikrobákra. Probiotikus baktériumként *Bifidobacterium bifidum*, *Enterococcus faecium* és *Lactobacillus acidophilus* törzseket használtunk, míg a káros baktériumokat egy *Escherichia coli* törzs képviselte. 13 sütőipari alapanyagot és 6 prebiotikus hatású anyagot vizsgáltunk a baktériumok kevert tenyészetin. Az általunk alkalmazott kísérleti körülmények között 6 sütőipari alapanyag és 2 prebiotikum szelektíven serkentette a probiotikus baktériumok szaporodását.

Munkánk során további célunk volt egy real-time PCR alapú módszer kidolgozása, amely sokkal gyorsabb megoldást jelent a baktériumok számának meghatározására (az egyes anyagok hatásának kiértékelésére), mint a hagyományos, olykor napokig tartó tenyésztéses eljárások. A TaqMan próbával és EvaGreen interkaláló festékkel végzett munka eredménye ígéretes, a módszer validálását követően nagymértékben lerövidíti a kiértékeléshez szükséges időt.

A probiotikus baktériumokkal szemben alapvető követelmény, hogy ellenállóak legyenek a savas pH-val szemben, hiszen csak akkor fejthetik ki hatásukat, ha túlélnek a gyomorban uralkodó körülményeket. Ugyanakkor az is fontos, hogy az alacsony (4°C) és magas (80°C) hőmérsékletet is jól tűrjék, hiszen erjesztett tejtermékekben a hűtést, a por állagú készítményekben pedig a porlasztva szárítást kell túlélniük. Ezért az általunk használt törzsek pH, só- és hőtürését is vizsgáltuk.

Alkalmazott kutatási munkák esetén alapvető az elvárás, hogy az eredmények a gyakorlatban is alkalmazhatóak legyenek. Kísérleteink részét képezik az EGERFOOD Regionális Tudásközpontban zajló munkának, amelynek célja, hogy az ipari partnerekkel karöltve probiotikus és prebiotikus termékek kerüljenek kifejlesztésre, amelyek hozzájárulhatnak a fogyasztók egészségének megőrzéséhez.

Mikrobiológia II. tagozat

Időpont: Április 9. 09:00

Terem: N épület, 110. terem

A zsűri elnöke: **Prof. Ács Éva**, tudományos tanácsadó
 MTA Ökológiai és Botanikai Kutatóintézet, Dunakutató
 Állomás

tagjai: **Dr. Hatvani Lóránt**, tanszéki munkatárs
 Szegedi Tudományegyetem, Mikrobiológiai Tanszék

Dr. Pócsi István, tanszékvezető egyetemi docens
 Debreceni Egyetem, Mikrobiális Biotechnológiai és
 Sejtbiológiai Tanszék

09:00	Dorogi Csilla	DE TTTK	EgLE az <i>Aspergillus nidulans</i> egy új, extracellulárisan termelődő β -1,3-endoglükánáza
09:20	Ferenczi Annamária	DE TTK	Consensus PCR módszerek alkalmazása a genitális humán papillomavírusok diagnosztikájában
09:40	Körmöczi Péter, Cseh Tímea	SZTE TTIK	Laskagomba zöldpenészes fertőzését okozó Trichoderma törzsek ökofiziológiai, enzimológiai és epidemiológiai vizsgálata
10:00	Krett Gergely	ELTE TTK	A Hévízi forrástó üledékében előforduló baktériumközösségek faji diverzitásának vizsgálata tenyésztésen alapuló és tenyésztéstől független molekuláris biológiai módszerekkel
10:20	Nagy Gábor	SZTE TTIK	Járomspórás gombák karotin-termelésének elemzése, a bioszintézis út molekuláris vizsgálata
10:40	Szünet		
10:50	Petkovits Tamás	SZTE TTIK	Járomspórás gombák filogenetikai és molekuláris taxonómiai vizsgálata
11:10	Radvánszkiné Mikuláss Kata	SZTE TTIK	A <i>Bacillus megaterium</i> 216 megacinnimmunitásért felelős fehérje szerepének vizsgálata <i>Bacillus megaterium</i> és <i>Escherichia coli</i> gazdában
11:30	Tengőlics Roland	SZTE TTIK	A kénanyagcsere és a H ₂ hidrogenáz kapcsolata <i>Thiocapsa roseopersicina</i> BBS-ben
11:50	Tóth Ákos	ELTE TTK	Dehalorespiráló mikroorganizmusok kimutatása molekuláris biológiai módszerekkel TCE által szennyezett területekről

MikroBiol_2

EgLE az *Aspergillus nidulans* egy új, extracellulárisan termelődő β -1,3-endoglükánáza

Dorogi Csilla

Debreceni Egyetem, Biológia BSc szak

Témavezetők: Szilágyi Melinda, Dr. Emri Tamás

Az autolízis egy aktív, energiaigényes, genetikailag szabályozott setjpusztulási folyamat, amely leggyakrabban a szénéhezre adott stresszválasz részeként figyelhető meg. Az autolízis utolsó lépése a sejtfal lebontása, melyben a kitinázok és proteázok mellett központi jelentőségű a β -1,3-endoglükánáz szerepe.

Munkánk során az *Aspergillus nidulans* autolízise alatt képződő extracelluláris β -1,3-endoglükánázokat tanulmányoztuk. Kísérleteinkben jelentős extracelluláris β -1,3-endoglükánáz és β -1,3-glükozidáz/ β -1,3-exoglükánáz aktivitást mértünk szénéhezre adott körülmények között. Különböző mutánsokkal végzett vizsgálatok segítségével megállapítottuk, hogy az extracelluláris β -1,3-endoglükánáz és β -1,3-glükozidáz/ β -1,3-exoglükánáz enzimek képződését alapvetően befolyásolja a sporuláció és az autolízis szabályozásában is fontos FluG-BrlA, valamint a FadA és GanB heterotrimer G protein-függő útvonalak. Kimutattuk továbbá, hogy hasonlóan az autolízishez, a β -1,3-glükozidáz/ β -1,3-exoglükánáz aktivitások képződése CreA-függő és CreA-független karbon repressziós szabályozás alatt állhat, míg a β -1,3-endoglükánázok glükóz repressziójában a CreA transzkripciós faktor nem vett részt.

A vizsgálataink második szakaszában azonosítottuk és részlegesen jellemeztük az *Aspergillus nidulans* egyik β -1,3-endoglükánázát. Ezen fehérje - MALDI-TOF spektruma alapján - egy eddig még ismeretlen funkciójú génnek a terméke, amelyet egLE-nek neveztünk el. Az EgLE szubsztrátspecifitása alapján egy β -1,3-endoglükánáz. Izoelektromos pontja 7,05-nek, redukáló SDS gélelektroforézissel megállapított molekulamérete 85 kDa-nak adódott. Az EgLE pH optimumának és pH-függő stabilitásának vizsgálatakor azt tapasztaltuk, hogy pH 4 és 9 között számottevő aktivitást mutatott, pH optimuma pedig 6,5-nek adódott. Stabilitását pH 6,5 és 8,5 között 24 órán át megőrizte (37 °C). Hőmérséklet optimuma 55 °C-nak adódott, de még 95 °C-on is detektáltunk jól mérhető aktivitást, igaz 55 °C felett hőstabilitása már igen kicsinek bizonyult.

Ezen extracelluláris fehérje pH optimumát és pH-függő aktivitását tekintve alkalmas lehet arra, hogy szénéhezre adott körülmények között, a pH folyamatos emelkedése ellenére, részt vegyen a gomba autolízisében és/vagy sporulációjában. A tápközeg (teljes) β -1,3-endoglükánáz aktivitásának erőteljes FluG-BrlA-függő szabályozottsága szintén alátámasztja ezt a feltételezést.

MikroBiol_2

Consensus PCR módszerek alkalmazása a genitális humán papillomavírusok diagnosztikájában

*Ferenczi Annamária
Debreceni Egyetem, Molekuláris biológus szak*

Témavezető: Dr. Veress György

A humán papillomavírus (HPV) fertőzés napjaink leggyakoribb vírusos eredetű, szexuális úton terjedő betegsége, melynek mintegy 100 különböző típusa ismert, közülük 50-et mutattak ki genitális léziókban. A magas rizikófaktorú HPV típusok (6,11,16,18) felelősek a cervix carcinoma kialakításáért, melyek genomját a tumoros minták csaknem 100%-ban kimutatták.

A laboratóriumi diagnosztikában leginkább az amplifikáción alapuló PCR módszert alkalmazzák, melyekhez különböző primereket használnak fel, ezzel a HPV-k pontos típusa is meghatározható. A diagnosztikában főként az MY09-11 primer rendszert alkalmazzák, mely jellegzetessége, hogy ún. "lötyögős" vagy degenerált bázisokat tartalmaz, ezen alapszik a többféle HPV típushoz való kapcsolódása. Azonban ha túl sok mismatch-et tartalmaz (> 4), akkor az amplifikáció hatásfoka csökken, ezen kívül sok a primerek közötti kereszthibridizáció. Célunk a PGMY09-11 primer rendszer bevezetése a diagnosztikába. Ezek a primerek nem tartalmaznak degenerált bázisokat, a 3' vég első 2 bázisa homológ a vírusgenom adott szekvencia részletével, mely elengedhetetlen a genomhoz való kapcsolódáshoz, a következő bázisoktól kezdve nagyobb variációt mutatnak, mint az MY09-11 primerek, mely a kapcsolódási variációk számának növelésével bővíti a detektálható HPV típusok számát. A PGMY09-11 primer rendszer 5 db upstream (PGMY11) oligonukleotidot illetve 13 db downstream (PGMY09) oligonukleotidot tartalmaz.

A vizsgálatokat és a rendszer optimalizálását klinikai mintákon végeztük. Először optimalizáltuk a PGMY09-11 amplifikációs rendszert, mely során meghatároztuk a legmegfelelőbb primer [PGMY09: 5pmol (0,1 μ M); PGMY11:10pmol (0,2 μ M)] és a $MgCl_2$ koncentrációt (2,5 mM). Vizsgálataink után az MY09-11 és PGMY09-11 rendszerek hatékonyságának összehasonlítására irányultak, mely során 200 klinikai mintát vizsgáltunk. Az egyes HPV típusok meghatározása RFLP módszerrel történt. A két amplifikációs rendszer érzékenységének vizsgálatára *Escherichia coli* K12 HB101-be illetve *E. coli* XL1 törzsbe transzformált pBR322 plazmidot használtunk, melybe HPV 6, 16 genomot illesztettek be. Az érzékenység meghatározására plazmid hígítási módszert alkalmaztunk, melyet PCR-rel amplifikáltunk, majd agaróz gélelektroforézissel elválasztottunk.

Eddigi vizsgálataink során azt tapasztaltuk, hogy a PGMY09-11 amplifikációs rendszer többféle HPV típust képes kimutatni nagy specifikussággal, ezen kívül gyorsabb és egyszerűbb is, mint a nested PCR technikán alapuló, MY09-11 valamint GP5+, GP6+ primereket felhasználó eddigi alkalmazott diagnosztikai módszer.

MikroBiol_2

**Laskagomba zöldpenészes fertőzését okozó *Trichoderma* törzsek
ökofiziológiai, enzimológiai és epidemiológiai vizsgálata**

Körmöczi Péter

Szegedi Tudományegyetem, Biológus laboratóriumi operátor szak

Cseh Tímea

Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Kredics László

Az elmúlt két évtizedben sok publikáció született a csiperke (*Agaricus bisporus*) zöldpenészes megbetegedéséről, melynek kiváltásáért a *Trichoderma aggressivum* fonalagomba felelős. A közelmúltban számos országban zöldpenészes megbetegedést észleltek a termesztett laskagomba (*Pleurotus ostreatus*) esetében is. A zöldpenész-problémát kiváltó, újonnan leírt fonalagombák a *Trichoderma* nemzetségbe tartoznak (*Trichoderma pleurotum* és *Trichoderma pleuroticola*).

Célul tűztük ki a két új faj ökofiziológiai, enzimológiai és epidemiológiai vizsgálatát. Az ökofiziológiai vizsgálatokat szintetikus minimál- és laskakivonatot tartalmazó táptalajokon végeztük. Tanulmányoztuk környezeti tényezők (hőmérséklet, pH, vízakktivitás) micéliumnövekedésre gyakorolt hatását, összehasonlítva a laskapatogén fajokat a *T. aggressivum f. aggressivum*, *T. aggressivum f. europaeum* és *T. harzianum* fajok képviselőivel. A *T. pleurotum* a *T. aggressivum* izolátumokhoz hasonlóan szűkebb hőmérsékleti tartományban (15-30°C) volt képes növekedni, mint a *T. pleuroticola* és *T. harzianum* törzsek (10-35°C). Savas tartományban a legtöbb törzs a laskakivonatos táptalajon mutatott nagyobb növekedést, lúgos tartományban pedig minimál táptalajon.

A vízakktivitás hatásának vizsgálata során a törzsek nagyobb telepeket képeztek a laskakivonatos táptalajon, növekedési rátájuk pedig csökkent a vízakktivitás csökkenésével. Az enzimológiai vizsgálatok során extracelluláris enzimek termelését vizsgáltuk nem-induktív (minimál tápoldat) és induktív (laskakivonatot, szalmakivonatot, ill. ezek kombinációját tartalmazó tápoldatok) körülmények között. Jelentős eltérést tapasztaltunk a két laskapatogén faj proteolitikus enzimeinek aktivitásában. A *T. pleurotum* proteolitikus rendszerét nagymértékben indukálta a laskatermesztés alapanyagként alkalmazott szalma, míg a *T. pleuroticola* proteázait a laska jelenléte indukálta, nem pedig a szubsztrát. További érdekesség, hogy ellentétben a *T. aggressivum* és *T. harzianum* fajokkal, az újonnan leírt laskapatogén fajok esetében nem tapasztalható konstitutív N-acetil-glükózaminidáz aktivitás. Eredményeink arra utalnak, hogy a két közeli rokon laskapatogén faj eltérő enzimátikus stratégiát alkalmaz a laskatermesztésben fennálló körülményekhez történő alkalmazkodás céljára. Tanszékünkön kifejlesztésre került egy PCR-eljárás, mely lehetővé teszi a két faj gyors azonosítását és egymástól való elkülönítését, ITS szekvencia-analízis nélkül. A módszer alkalmazásával igazoltuk, hogy a fertőzés terjesztésében szerepet játszhatnak a termesztő telepeken jelenlevő különböző rovarok: laskatermesztő helységből származó légypapírokról sikerült ugyanis kitenyésztenünk és azonosítanunk a két laskapatogén faj izolátumait.

MikroBiol_2

A Hévízi forrástó üledékében előforduló baktériumközösségek faji diverzitásának vizsgálata tenyésztésen alapuló és tenyésztéstől független molekuláris biológiai módszerekkel

Krett Gergely

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Borsodi Andrea, Palatinszky Márton

A Hévízi forrástó Európa legmélyebb tőzegmedrű tava. Üledéke sajátos mikrobiótának ad otthont, mely fontos szerepet játszik a tó természetes állapotának és gyógyhatásának fenntartásában.

Kutatásunk célja összehasonlító bakteriális diverzitás elemzés volt, különös tekintettel az antibiotikum termelésük, vagy polimer bontó képességük révén biotechnológiai hasznosításra is érdeklődésre számot tartó *Actinobacteria* törzs tagjaira.

Mintavétel a forrástó két pontján eltérő üledékmélyiségekben történt 2007 októberében. Hígításos szélesztéses technika alkalmazásával több, mint 500 baktériumtörzset izoláltunk kilencféle táptalajról. A 245 tiszta tenyészetből nyert DNS 16S rRNS-t kódoló régióját polimeráz láncreakció segítségével felszaporítottuk, majd restrikciós enzimekkel hasítottuk. A kapott 122 ARDRA csoportból egy-egy reprezentáns szekvenciáját meghatároztuk. A baktériumtörzsek közül az *Actinobacteria* törzsbe tartozó *Arthrobacter*, *Brachybacterium*, *Brevibacterium*, *Curtobacterium*, *Friedmanniella*, *Gordonia*, *Kocuria*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Micromonospora*, *Mycobacterium*, *Rhodococcus*, *Streptomyces* és *Williamsia* nemzetségek jelenlétét igazoltuk. *Bacillus* nemzetséggel a törzsek 42%-a mutatott nagy szekvencia hasonlóságot.

Molekuláris vizsgálataink során mindegyik mintából közösségi DNS-t izoláltunk, és PCR alapú hosszheterogenitás vizsgálatot végeztünk. Az LH PCR-rel legdiverzebbnek mutatkozó mintákból készítettünk klónkönyvtárakat, melyek feldolgozása során a 192, illetve 288 klón 16S rDNS restrikciós hasítása 125, valamint 150 ARDRA csoportot eredményezett. A meghatározott főbb csoportreprezentáns szekvenciák nagy része a tenyésztéssel nyert eredményektől eltérően, főként környezeti klónszekvenciákkal mutatott nagyfokú hasonlóságot.

MikroBiol_2

Járomspórás gombák karotin-termelésének elemzése, a bioszintézis út molekuláris vizsgálata

Nagy Gábor
Szegei Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Papp Tamás

A karotinoidok terpén típusú pigmentek, amelyek antioxidáns és egészségre kedvező hatásuk miatt nagy jelentőséggel bírnak az élelmiszer-, a kozmetikai és a gyógyszeripar, valamint a mezőgazdaság számára. A járomspórás gombák (Zygomycetes) egységes, rendszertanilag jól körülhatárolható csoportot alkotnak. A legtöbb faj a Mucorales rend tagja, amelyek főként talajban előforduló szaprofita szervezetek. A rendbe tartozó *Phycomyces blakesleeanus*, *Blakeslea trispora* és *Mucor circinelloides* a karotin bioszintézis tanulmányozásában használt modellszervezetek.

Munkánk során két fő célkitűzésünk volt. Egyrészt, hogy olyan új – nagyobb karotin-termelésre képes és/vagy eltérő karotinoid összetételű – járomspórás gombatörzseket azonosítsunk és jellemezzünk, melyek felhasználhatók lesznek a további alap- és alkalmazott kutatásokban, másrészt, hogy tisztázzuk a karotintermelés vizsgálatában modellorganizmusnak számító *Mucor circinelloides* 3-hidroxi-3-metilglutaril-koenzim A (HMG-KoA) reduktáz génjeinek a karotinoid és általában a terpén bioszintézisben betöltött szerepét.

Eddig szinte kizárólag az említett három járomspórás gombafaj karotin-termelését vizsgálták részletesen, noha számos olyan rokon faj létezik, mely, előzetes vizsgálataink alapján, legalább olyan jó termelőnek tűnik, mint a fent említett szervezetek. Ezért kiválasztottunk 21 különböző rokon fajokba tartozó gombatörzset (16 *Mucor* sp., 1 *Backusella* sp., 2 *Rhizopus* sp. és 2 *Gilbertella* sp.), melyek karotinoid termelését részletesen elemeztük. Vizsgáltuk a gombák karotinoid összetételét és a karotintermelés mértékét különböző tenyésztési körülmények (fény, hőmérséklet, szénforrás) mellett. A termelt színanyagok összetételét és mennyiségét HPLC módszerrel analizáltuk. Találtunk az eddig ismert termelő szervezeteknél nagyobb produkcióra képes törzseket, köztük olyat is, mely a *M. circinelloides* termelésének 3-4 szeresét produkálta, sőt új karotinoid összetételű törzseket is sikerült azonosítani.

A karotinoidok bioszintézisének kezdeti szakasza megegyezik a többi izoprén származék, pl. a szteroidok, szintézisének kezdeti lépéseivel. Ezen, ún. mevalonsav út, egyik meghatározó lépése a HMG-KoA redukciója mevalonsavvá. A karotintermelés vizsgálatában modellorganizmusként használt *M. circinelloides* genomja három HMG-KoA reduktáz gént (hmgR1, 2 és 3) tartalmaz. Munkák során izoláltuk a *M. circinelloides* mindhárom hmgR génjét. Az izolált génekre alapozva expressziós vektorokat hoztunk létre, amelyek segítségével megkezdjük az egyes hmgR gének jellemzését és a különböző izoprenoid vegyületek (elsősorban a karotinoidok és a szteroidok) szintézisében betöltött szerepének tanulmányozását.

MikroBiol_2

Járomspórás gombák filogenetikai és molekuláris taxonómiai vizsgálata

Petkovits Tamás
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Papp Tamás

A *Mucor* nemzetség tagjai a járomspórás gombák (*Zygomycetes*) egy jellegzetes csoportját alkotják. Az idetartozó fajok többsége főként a talajból, vagy különböző növényi és állati eredetű bomló szerves anyagokból izolálható szaprofita szervezet. Gyakran vizsgált modell organizmusok, elsősorban különböző szabályzó mechanizmusok, sajátos szexuális folyamataik, a mikrobiális karotinoid bioszintézis, vagy éppen a gomba morfogenezis tanulmányozása során. Számos orvosi, ipari, biotechnológiai és mezőgazdasági szempontból fontos fajt találunk közöttük. Egyes képviselők extracelluláris enzimek termelőiként, vagy értékes biológiai aktivitással rendelkező vegyületek sztereospecifikus hidroxilálóiként kerülnek ipari felhasználásra, mások orvosi szempontból, mint zigomikózist okozó opportunistáknak humánpatogén gombák érdemelnek figyelmet. A *Mucor* nemzetség jelenlegi taxonómiai felosztása elsősorban morfológiai és keresztezési vizsgálatokon alapul. Az elmúlt években számos, a járomspórás gombák molekuláris filogenetikai viszonyaival foglalkozó publikáció jelent meg. Bár ezek a munkák főleg a gombacsoport magasabb szintű (rend, család) viszonyaira irányultak és csak kevés *Mucor* fajt vontak be ezekbe a vizsgálatokba, mégis, számos olyan eredmény született, amelyek a *Mucor* nemzetség jelenleg elfogadott felosztását kérdésessé teszik. Ezért célul tűztük ki, hogy nagyszámú *Mucor* izolátum és a rokon fajok törzseinek bevonásával és a molekuláris filogenetika eszközeivel tanulmányozzuk a nemzetség rokonsági viszonyait, különös tekintettel egyes nehezen besorolható, ám nagy biotechnológiai jelentőségű fajokra.

Munkánk során a rendelkezésünkre álló törzsekből PCR technikával felszaporítottuk a nrDNA ITS (internal transcribed spacer) régiót, valamint a tef (transzlációs elongációs faktor EF-1 alfa) gén egyes szakaszait, majd a szekvenciák meghatározása után, további a nemzetközi adatbázisokban (EMBL/NCBI) fellelhető DNS szekvenciákkal kiegészítve elvégeztük azok filogenetikai elemzését. A mintegy 70 különböző izolátumból származó szekvenciát szoftver segítségével, illetve manuálisan illesztettük, majd összevetettük más, génbankból származó adatokkal is. A kapott eredmények alapján többféle módszerrel (pl. maximum likelihood; MrBayes; parsimónia) is törzsfákat számoltattunk, majd ezeket elemeztük. Ezen vizsgálatokban a *Mucor* nemzetség polifiletikusnak bizonyult. Sikerült több eddig bizonytalan, csak egy-két izolátummal reprezentált faj rokonsági viszonyait is tisztázni.

MikroBiol_2

A *Bacillus megaterium* 216 megacininimmunitásért felelős fehérje szerepének vizsgálata *Bacillus megaterium* és *Escherichia coli* gazdáiban

Radvánszkiné Mikuláss Kata
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Alföldi Lajos, Dr. Kiss Antal, Dr. Boros Imre

A *Bacillus megaterium* 216-os törzse bizonyos környezeti hatásokra (pl. UV besugárzás) egy, a *B. megaterium*, valamint néhány más baktérium számára toxikus fehérjét (megacin A-216) kezd termelni. A megacintermelést a sejtek szétesése kíséri. A megacिनogéniát mutató 216-os törzs nagymértékben immunis a megacinnal szemben. A megacिनogéniáért felelős géneket, melyek egy kb. 47 kb-os plazmidon helyezkednek el, csoportunkban klónozták. Azonosították a megacin génjét, valamint a megacin elleni immunitásért felelős gént (ORF91). Ez utóbbi egy 91 aminosavból álló fehérjét (P91) kódol.

Munkánk célja, hogy felderítsük a megacin-immunitás mechanizmusát, valamint a P91 fehérje esetleges egyéb biológiai szerepét. Ennek érdekében a P91 génjének expressziós plazmidvektorba ültetésével létrehoztunk olyan plazmidokat, melyek segítségével a fehérje *E. coli*-ban ill. *B. megaterium*-ban szabályozottan (IPTG-vel, ill. xilózzal indukálhatóan) termeltethető. Abból a célból, hogy az immunitásfehérje és a megacinrégió által kódolt egyéb fehérjék közötti esetleges funkcionális kapcsolatokat feltárjuk, a megacinrégióban restriktív fragmentumok kiejtésével deléciókat hoztunk létre, és hatásukat *B. megaterium*, valamint *E. coli* gazdasejtekben vizsgáltuk.

A mikroszkópos morfológiai változásokat differenciál interferencia kontraszt (DIC vagy Nomarski) és fáziskontraszt mikroszkóp segítségével vizsgáltuk. A mikroszkópos megfigyelések alapján megállapítható, hogy a *B. megaterium*-ból származó P91 kifejeződik *E. coli*-ban is. Kölcsönhatást figyeltünk meg a 91-es fehérje, és két, a megacinrégióban elhelyezkedő, valószínűleg transzkripciós regulátorfunkcióval rendelkező gén (ORF188 és ORF73) között. Mindhárom gén jelenlétében a sejtek a tipikus morfológiai képet mutatják. Önmagában az ORF91 tömzsi sejteket eredményez, míg ha az ORF91 hiányzik, de a regulátorgének jelen vannak, fonalas sejtek jönnek létre.

Ezek a megfigyelések arra utalnak, hogy az immunitásfehérje – valószínűleg közvetett módon – szerepet játszik a szeptum képződésében, vagy a sejtfa bioszintézisben is.

MikroBiol_2

A kénanyagcsere és a Hyn hidrogenáz kapcsolata *Thiocapsa roseopersicina* BBS-ben

Tengölics Roland
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Rákhely Gábor, Dr. Kovács Kornél

A hidrogén a jövő energiahordozója, mivel ez a máig ismert egyetlen olyan anyag, aminek égése során semmilyen káros melléktermék nem keletkezik. A környezetbarát és egyben olcsó hidrogén előállításának kutatása esszenciális a hosszú távú energiaproblémák megoldásához.

Hidrogén előállítására több lehetőségünk van, de a legtöbb jelentős energiaigénnyel rendelkezik és drága. Mivel már egy évszázada tudjuk, hogy vannak olyan organizmusok melyek képesek hidrogenáz enzimeik segítségével hidrogént termelni, adja magát a lehetőség, hogy ezek segítségével oldjuk meg az olcsó, környezetbarát tüzelőanyag előállítását.

Modellorganizmusunk, a Chromatiaceae családnhoz tartozó *Thiocapsa roseopersicina* BBS olyan fotoszintetizáló bíbor kénbaktérium, mely vízbontásra nem képes ezért az elektronokat leginkább redukált kénvegyületekből nyeri, és legalább négy hidrogenázt tartalmaz.

Munkám során a membránkötött Hyn hidrogenáz és a lehetséges endogén elektrondonorok kapcsolatát vizsgáltam. Modellünk szerint a közvetlen elektrondozó egy heterodiszulfid komponenset tartalmazó redox vegyületpár (GASH/GAS-S-SAG). A triszulfid forma bontását a Hyn hidrogenáz Isp2 alegysége végzi. A glutation-amid homodiszulfiddá való visszaalakítása pedig feltételezhetően a glutation-amid reduktáz (Gar) enzim feladata.

Munkám során a *T. roseopersicina* genomjában azonosítottam a garAB géneket, majd in-frame mutagenézis segítségével deletáltam őket, és a GarAB fehérjék hiányának hatását vizsgáltam.

A Hyn hidrogenáz kénfüggő hidrogén metabolizmusnak másik megközelítése, hogy megvizsgáljuk a különböző kénvegyületek hatását a Hyn aktivitására. Kísérleteim során azt figyeltem meg, hogy ha a tápoldat nátrium-tiosulfát koncentrációját emeljük, a Hyn hidrogenáz az *in vivo* hidrogéntermelő aktivitása jelentősen növekszik, míg mesterséges elektron donor jelenlétében az aktivitás csökken. Igazoltam, hogy az *in vivo* változásnak metabolikus okai vannak, továbbá azt találtam, hogy ha növelem az elemi kén koncentrációját a tápoldatban az *in vivo* termelésnövekedést és *in vitro* termeléseszkökenést okoz. Ezen túlmenően megmutattam, hogy a Hyn hidrogenáz *in vivo* hidrogén termelése kritikusan fénykapcsolt folyamat.

A kénkoncentráció és hidrogéntermelés kapcsolatát magyarázandó, modellt állítottam fel a *T. roseopersicina* kénanyagcserejére, rámutatva a hidrogén anyagcserevel való kapcsolatára, valamint bizonyítottam egy, a sejtek környezetében lévő abiotikus elektronakceptor létét, amivel magyaráztam az *in vitro* hidrogenáz aktivitás csökkenést.

MikroBiol_2

**Dehalorespiráló mikroorganizmusok kimutatása molekuláris
biológiai módszerekkel TCE által szennyezett területekről**

Tóth Ákos

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Révész Sára

A klórozott szénhidrogének, mint a triklóretilén (TCE) és a perklóretilén (PCE) gyakori környezetkárosító anyagok szerte a világon. A szennyezett területek kármentesítésének hatékony módja lehet a mikrobaközösségek segítségével történő bioremediációs technikák alkalmazása, ehhez azonban fontosabbak között az is, hogy minél pontosabb képünk legyen a szennyezett területek mikrobaközösségeiről, illetve az ezekben végbemenő változásokról. A kármentesítés során kiemelkedően fontos szerepük lehet a klórozott szénhidrogének hasznosítására képes deklorináló szervezeteknek.

Célunk olyan molekuláris biológiai módszer kidolgozása és optimalizálása volt, amely a 16S rRNS gén specifikus kimutatásán alapul, és amellyel a szennyezett területekről származó mintákból rutinszerűen lehet kimutatni az általunk kiválasztott deklorináló szervezeteket (*Desulfomonile tiedjei*, *Dehalococcoides ethenogenes*, *Desulfitobacterium* sp., *Dehalobacter restrictus*, *Desulfuromonas chloroethenica*).

Munkánk során ezen baktériumok anyagcseréjét szeretnénk volna serkenteni megfelelő elektron donor és szénforrás környezetbe juttatásával, a hatékonyabb lebontás érdekében. A kiválasztott adalékanyag hatását a klórozott szénhidrogének lebontására, és a deklorináló szervezetek jelenlétére mikrokozmosz kísérletekben, és in situ kezelés során is tanulmányoztuk. Vizsgáltuk még a *Dehalococcoides ethenogenes*, és egy az eténig történő lebontásban kiemelkedő szerepű funkcióján, a vinil-klorid redukáz (vcrA) mennyiségi viszonyait is.

Eredményeink alapján elmondható, hogy az általunk adalékanyagként választott tejsavó alkalmazása hatékonyan segítette a TCE, illetve a PCE lebontását. Igazolódott a *Dehalococcoides ethenogenes* kulcsszerepe is, hiszen ezek mennyisége azokon a területeken, ahol a halogénezett szénhidrogének lebontása sikeres volt mindig elérte a detektálási határt.

Mikrobiológia III. tagozat

Időpont: Április 9. 15:00

Terem: M épület, 1. terem

A zsüri elnöke: **Dr. Lakatos Gyula**, tanszékvezető egyetemi docens
Debreceni Egyetem, Alkalmazott Ökológia Tanszék

tagjai: **Dr. Gácsér Attila**, tudományos munkatárs
Szegedi Tudományegyetem, Mikrobiológiai Tanszék

Dr. Takács András Péter, egyetemi adjunktus
Pannon Egyetem, Növényvédelmi Intézet

15:00	Balázs Petra	SZIE ÁOTK	A vörös vércse (<i>Falco tinnunculus</i>) és az egerészölyv (<i>Buteo buteo</i>) szárgaratüregében domináló aerob baktériumflóra vizsgálata
15:20	Farkas Mariann	ELTE TTK	Nitrifikáló és denitrifikáló mikroorganizmusok vizsgálata technológiai szennyvízben
15:40	Kriston-Pál Éva	SZTE TTIK	Villányi borok élesztőbiótájának vizsgálata
16:00	Laukó Andrea	DE TTK	Olajbontó <i>Rhodococcus</i> sp. fehérjéinek proteomikai vizsgálata
16:20	Lejtovicz Zsuzsanna	ELTE TTK	A budapesti ivóvízhálózat tenyésztendő baktériumközösségeinek vizsgálata
16:40	Szünet		
16:50	Ördögh Lilla	SZTE TTIK	Gyümölcslevek és nem antifungális szerek antifungális hatása
17:10	Szabó Zsolt	SZTE TTIK	A <i>Dietzia</i> sp. E1 jelű törzs n-alkánbontó képességének kinetikai jellemzése és molekuláris biológiai háttere
17:30	Szoboszlai Márton	ELTE TTK	Ipari hűtővízrendszerben kialakuló biofilm tenyésztésen alapuló vizsgálata
17:50	Varga Karolina	ELTE TTK	Klórozott alifás szénhidrogénekkal szennyezett területek kármentesítésének nyomon követése klasszikus mikrobiológiai módszerekkel

MikroBiol_3

**A vörös vércse (*Falco tinnunculus*) és az egerészölyv (*Buteo buteo*)
száj-garatüregében domináló aerob baktériumflóra vizsgálata**

Balázs Petra
Szent István Egyetem, Állatorvos-doktor szak

Témavezető: Dr. Makrai László

A vörös vércse (*Falco tinnunculus*) és az egerészölyv (*Buteo buteo*) a két leggyakrabban előforduló ragadozó madárfaj hazánkban. Annak ellenére, hogy az elsődleges bakteriális fertőzések nem szokványos okai a ragadozó madarak megbetegedéseinek, a természetes baktériumflóra ismerete segít a beteg madaraktól végzett bakteriológiai vizsgálat eredményének kiértékelésében. Mivel Magyarországon minden ragadozó madárfaj védett illetve fokozottan védett, így kiemelten fontos lehet ez a fogságban tartott madarak egészségmegővése szempontjából.

A vizsgálataink célja a vörös vércse és az egerészölyv száj-garatüregében domináló természetes aerob baktériumflóra meghatározása, valamint a szakirodalmi adatok ezen határterületen való bővítése volt.

Vizsgálataink során az ország öt különböző pontjáról 10 vörös vércséből és 10 egerészölyvből gyűjtöttünk tamponmintákat a choana-rés területéről. A különböző táptalajokra leoltott mintákat aerob körülmények között 37°C-on, 24-48 órán át inkubáltuk, majd a tenyészetben a 3-4 leggyakrabban előforduló telepmorfológiájú baktériumból szintenyészetet hoztunk létre. A megvizsgált 20 ragadozó madár száj-garatüregéből összesen 73 baktérium-izolátumot különítettünk el. Meghatároztuk az izolátumok elsődleges és másodlagos tenyésztési, morfológiai és biokémiai tulajdonságait. A faj szintű meghatározáshoz BIOLOG és API baktérium-azonosító rendszereket használtunk.

A megvizsgált ragadozó madarak száj-garatüregének flóráját Gram-pozitív fajok dominálták. A legtöbbször előforduló baktériumtörzsek a következő genusokba tartoztak: *Corynebacterium*, *Staphylococcus*, *Pasteurella*, *Micrococcus*.

A leggyakrabban izolált fajok a következők voltak: *Deinococcus radiopugnans* (9/73), *Rathayibacter tritici* (8/73), *Pasteurella langaensis* (8/73), *Corynebacterium minutissimum* (6/73).

Vércsékben főleg *Staphylococcus* (9/36), *Corynebacterium* (7/36) és *Pasteurella* (6/36) genusok fordultak elő, míg ölyvekből leggyakrabban *Corynebacterium* (9/37), *Deinococcus* (7/37), *Pasteurella* (5/37), *Rathayibacter* (6/37) és *Micrococcus* (4/37) genusokat izoláltunk.

MikroBiol_3

Nitrifikáló és denitrifikáló mikroorganizmusok vizsgálata technológiai szennyvízben

Farkas Mariann

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Felföldi Tamás, Gorál Róbert

Az ipari szennyvizekben jelenlevő nitrogéntartalmú vegyületek eltávolításáért felelős nitrifikáló és denitrifikáló mikrobák vizsgálatát végeztük molekuláris biológiai módszerekkel. Kokszolómű technológiai vizét kezelő többlépcsős laboratóriumi modellrendszer aerob reaktorában megfelelő üzemeltetési paraméterek mellett nitrifikáció zajlott, míg anaerob reaktorában denitrifikáció történt.

A nitrifikáció lépéseit (ammónia hidroxilaminná-, majd nitritté oxidálását, majd a nitrit nitráttá alakítását) végző mikrobák azonosítása funkciógének segítségével valósult meg. A folyamat első lépéséért felelős ammónia-monooxigenáz aktív alegységét kódoló *amoA* gén T-RFLP vizsgálata alapján a nitrifikáló reaktorban *Nitrosospira* sp. szervezetek domináltak. A nitrit oxidálást végző nitrit-oxidoreduktáz kis alegységét kódoló *nxB* gén klónozásával a *Nitrobacter* sp. tagjait mutattuk ki.

A rendszerről elfolyó tisztított víz nitráttartalma a hatékony denitrifikáló mikrobaközösség aktivitásának köszönhetően lecsökkent. Részleges 16S rDNS szakasz klónozásával α -, β -, γ -, ϵ -Proteobaktériumokat, *Bacteroidetes* szervezeteket tartalmazó diverz közösséget mutattunk ki, egyes genusok valószínűleg aromás vegyületeket bontását is végezték. Acetát és metanol exogén szerves szénforrás cseréjének következményeit vizsgáltuk cDNS alapon, melyek a *Thauera* sp. és a *Methyloversatilis* sp. kiemelkedő szerepét igazolták a denitrifikáló reaktorban. Denitrifikációs enzimek közül két különböző típusú nitrit-reduktáz fehérjét (NirS, NirK) kódoló gén klónozásával *Thauera*, *Alcaligenes* és számos egyéb mikrobát azonosítottunk. Az eleveniszapból tenyésztett törzsekben nitrit-reduktáz géneket mutattunk ki.

Összefoglalva vizsgálatainkat 16S rDNS és funkciógének segítségével nitrifikáló és denitrifikáló prokariótákat azonosítottunk.

MikroBiol_3

Villányi borok élesztőbiótájának vizsgálata

Kriston-Pál Éva

Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Avasiné Dr. Kucsera Judit

Élesztőgombák között egyre több olyan törzset írnak le, amelyek extracelluláris toxint (mikocint) termelnek. Ezek a toxinok elpusztítják az azonos vagy közeli nemzetségbe tartozó érzékeny élesztősejteket, a termelő törzsnek viszont immunitást biztosítanak.

Mind a killer toxinokat, mind a toxinokat termelő élesztő törzseket sokféleképpen felhasználják. A fermentációs folyamatokban a killer élesztőket starter kultúráként lehet alkalmazni, így elkerülhetővé válik a szőlőn és a mustban természetesen jelen lévő, de az erjedést negatívan befolyásoló élesztő kontamináció. Az ideális starter kultúrát úgy képzelik el, hogy rendelkezik a fajélesztők kedvező genetikai tulajdonságaival (magas fermentációs ráta, etanol tolerancia, kéndioxid-rezisztencia, 1,4- β -endoglükánáz termelés, flokkuláció) valamint ellenáll mikrobiális toxinoknak és olyan toxint termel, ami elpusztítja az endemikus élesztőket.

Munkánk célja a villányi borvidékről származó borminták erjedésében szerepet játszó killer élesztőgombák meghatározása, valamint jó erjesztési képességgel rendelkező killer törzsek izolálása, amelyeket starter kultúráként lehetne használni az irányított erjesztésben.

Különböző típusú (Cabernet Franc, Oportó) és erjedési stádiumban lévő borokból izoláltunk élesztőtelepeket, melyek toxin termelő képességét törzsgyűjteményből származó élesztőkkel szemben vizsgáltuk. Négy vad típusú szenzitív fajt választottunk ki, melyek igen eltérően viselkedtek a toxinokkal szemben, jelezvén a szekretált mikocinek heterogenitását.

A killer típusú törzsek egy-egy izolátumából nukleinsavat vontunk ki, amelynek gélelektroforetikus vizsgálata alapján megállapítottuk, hogy dsRNS molekulákat tartalmaznak. Ezek a molekulák VLP-vel (virus-like particles) burkoltak, méretük az egyes típusokban eltérő.

MikroBiol_3

Olajbontó *Rhodococcus* sp. fehérjéinek proteomikai vizsgálata

Laukó Andrea
Debreceni Egyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Vargha György

A Humán genetika Tanszéken végzett vizsgálataink során egy *Rhodococcus* törzs, a Db10 enzimrendszerének proteomikai vizsgálatát végeztük el.

A törzs tenyésztése során már fény derült arra, hogy képes ásványolaj-bontásra. Párhuzamosan indítottunk egy tenyészetet, amely szénforrásként peptonot kapott, és egy másikat, amely csak olajat (n-hexadekánt).

A folyékony tenyészetből összegyűjtött sejteket French-press technikával roncsoltattuk, így kinyerve enzim- és fehérjekészletüket. Ezt a készletet vetettük alá 2-D gélelektroforézisnek. Az így kapott géleken enzimeink pI és méret szerint is elkülönültek.

Ezeket a géleket egy ún. PDQuest programmal elemeztük, összehasonlítva az olajon nevelt mikrobák és a nem olajos, pepton tartalmú táptalajon növesztett mikrobák fehérje készletét. Az ásványolaj fehérje termelést indukáló hatása jól kivehető volt.

Ezután kiválasztottuk mindkét gélből a jellemző és emelkedett mennyiségű fehérjéket tartalmazó pontokat, majd a Szegedi Tudományegyetem Proteomikai Kutatócsoportja tömegspektrometrián azonosította a fehérjéket. Az adatbázis hiányosságai, illetve a különböző fajok/törzsek közötti különbségek miatt ez nem sikerült kielégítő bizonyossággal, de többé-kevésbé releváns eredményeket kaptunk.

Főként a glioxalát és trikarbonsav ciklus enzimeit találtuk meg emelkedett mennyiségben, de más olyan enzimek termelése is fokozódott, melyek, ha csak áttételesen is, de kapcsolódhatnak a zsírsav-lebontáshoz és szénhidrát-metabolizmushoz, glükoneogenezishez vagy más bioszintetikus útvonalakhoz, melyek acetyl-csoportokat használnak, vagy éppen szabadítanak fel.

MikroBiol_3

A budapesti ivóvízhálózat tenyészhető baktériumközösségeinek vizsgálata

Lejtovicz Zsuzsanna
Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Makk Judit, Homonnay Zalán

Budapest ivóvízellátása a Duna kavicssteraszának partiszűrészű kútjain alapul. Ezek nagy mennyiségű, jó ill. kiváló minőségű vizet termelnek, amely később csak klórozást igényel. Mivel az ivóvizet főként közegészségügyi szempontból vizsgálják, a víz baktériumközösségének fajösszetétele idáig nem teljesen ismert.

Jelen munka célja a partiszűrészű kutak, illetve a kutak vizét gyűjtő és a klórozott vizet elosztó hálózat tenyészhető baktériumközösségeinek összehasonlítása.

A hálózat hat pontjáról vett vízmintákat oligotróf táptalajokon (R2A, PYE, M27, Ravan) szélesztettük, majd hígítással, ill. membránfilteres sejtszámbecslést végeztünk. Az így kapott csíraszámok $10-100 \text{ CFU} \cdot \text{ml}^{-1}$, ill. $0,1-1 \text{ CFU} \cdot \text{ml}^{-1}$ nagyságrendűek. Az izolált baktériumtörzseket T-RFLP és ARDRA profiljaik alapján csoportosítottuk, majd a kiválasztott csoport reprezentánsokat parciális 16S rDNS szekvencia analízissel határoztuk meg.

A klórozatlan vízmintákban tipikus vízi, heterotróf baktériumok voltak jelen, melyek a *Brevundimonas*, *Acidovorax*, *Rhodospirillum rubrum*, *Nocardioideum*, *Sphingomonas*, *Sphingopyxis*, *Mycobacterium*, *Bradyrhizobium*, *Lysobacter*, *Caulobacter*, *Hydrogenophaga*, *Massilia*, *Polaromonas*, *Micrococcus*, *Methylobium*, *Asticcacaulis* és *Flavobacterium* nemzetségekhez tartoztak. A klórral kezelt minták alacsonyabb diverzitást mutattak, ezekben nem patogén *Mycobacterium* fajok dominanciája volt jellemző. Az izolált baktériumtörzsek között új taxonok jelenlétét is sikerült igazolnunk.

MikroBiol_3

Gyümölcslevek és nem antifungális szerek antifungális hatása

Ördögh Lilla

Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Vágvölgyi Csaba; Dr. Galgóczi László

A patogén élesztők és járomspórás gombák által okozott fertőzések esetszáma az utóbbi években fokozatosan emelkedett, ami komoly gondot jelent az egészségügy számára. A problémát tovább súlyosbítja a széles spektrumú antibiotikumok nem megfelelő alkalmazása, aminek következtében egyre több rezisztens mikroorganizmus jelenik meg. A gombás fertőzések kezelésére használt antimikotikumok többsége szűk hatásspektrumú és mellékhatásaik súlyosan károsíthatják a gazdaszervezetet. Mindezekből következően szükségessé vált új, hatékony antimikrobiális szerek kifejlesztése. A gyümölcslevek és azok kivonataik, valamint a gyógyászatban olyan, nem antifungális szerként alkalmazott készítmények, amelyek másodlagosan antifungális hatással rendelkeznek ígéretes jelöltek lehetnek ebből a szempontból.

Munkánk során mikrodilúciós módszerrel vizsgáltuk gyümölcslevek és azok kivonatainak antifungális hatását *Candida* fajok ellen, továbbá négy gombaellenes hatással rendelkező nem-antifungális szer (trifluoperazin, TFP; klórpromazin, KPZ; szuramin, SUR; fluvasztatin, FLU) és ezek kölcsönhatását egy antifungális szerrel (amfotericin B, AMB) patogén járomspórás gombaizolátumokkal szemben.

A vizsgálatba bevont magasabbrendű növények közül főként a Grossulariaceae, Rosaceae és a Berberidaceae családba tartozó fajok esetében tapasztaltunk antifungális aktivitást. A gyümölcsök vizes, illetve metanolos kivonatai hatékonyabban gátolták a gombák szaporodását, mint a friss gyümölcslevek.

Az állandó koncentrációjú ($100 \mu\text{g ml}^{-1}$) SUR számos eltérő koncentrációjú FLU-nal szinergista vagy additív kölcsönhatásba lépett, abban az esetben, ha a járomspórás gombafaj érzékenynek mutatkozott az egyik szerrel szemben. Ugyanakkor antagonista kölcsönhatást figyeltünk meg, ha külön-külön mindkét szerre érzékenynek bizonyult a gomba. A $100 \mu\text{g ml}^{-1}$ SUR az AMB eltérő koncentrációival additív kölcsönhatást mutatott, amikor a gomba csak az AMB-re volt érzékeny. Ha mindkét szer gátolta a gomba növekedését, akkor kombinációjuk alkalmazásakor antagonizmust tapasztaltunk. Kísérleteink során kimutattuk, hogy a KPZ és a TFP külön-külön hatékonyan gátolja a járomspórás gombák növekedését. A TFP az AMB-vel szinergista, míg a KPZ-nal antagonista kölcsönhatásba lépett.

Eredményeinkkel sikerült igazolnunk néhány növényi kivonat antifungális hatását *Candida* fajok ellen; továbbá eddig nem antifungális szerként alkalmazott készítmények és ezek AMB-vel történő kombinációinak növekedés gátló hatását járomspórás gombákkal szemben. Kísérleti eredményeink további vizsgálatok után új, hatékony antifungális terápia alapját képezhetik.

MikroBiol_3

A *Dietzia* sp. E1 jelű törzs *n*-alkánbontó képességének kinetikai jellemzése és molekuláris biológiai háttere

Szabó Zsolt

Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Bihari Zoltán, Dr. Szvetnik Attila, Dr. Rákhelyné Dr. Perei Katalin

Hazánkban legalább 3 millió m³ talaj és 1,2 millió m³ talajvíz szennyezett különböző szénhidrogénekkal. Ez komoly környezetvédelmi problémát jelent, amelynek felszámolása becslések szerint 30-40 évet és 1000 milliárd forintot emészt majd fel. Ezért tehát különösen fontos olyan biotechnológiai eljárások kidolgozása, amelyekben mikroorganizmusok alkalmazásával a szennyezések költséghatékonyan megsemmisíthetőek. Egy ilyen Gram-pozitív baktérium az Intézetünk munkatársai által izolált, a *Dietzia* genusba tartozó, E1 jelű törzs, mely aerob körülmények között a *n*-alkánok rendkívül hatékony lebontására képes.

Részletesen vizsgáltuk az alkalmazott tápközeg pH-jának és sókoncentrációjának, valamint az inkubációs hőmérsékletnek az izolátum *n*-hexadékan szubsztrát degradációjának sebességére gyakorolt hatását. Az optimálisnak talált környezeti körülmények között meghatároztuk a törzsünk által egyedi szén- és energiaforrásként hasznosított különböző *n*-alkánok (*n*-C₆ - *n*-C₄₀) bontási kinetikáját. Az optimális *n*-alkán szénforrás mellett gázkromatográfiás analízissel nyomon követtük az izolátum nyersolaj szubsztrátra gyakorolt degradációs hatását is.

Az alkánbontás molekuláris biológiai hátterének feltérképezéséhez szükségünk volt megfelelő genomi DNS és RNS izolálási módszerek fejlesztésére. Ezek sikere után Southern-hibridizációs kísérlettel bizonyítottuk, hogy az alkán-lebontás első lépését feltételezhetően katalizáló alkán-hidroxiláz enzimet kódoló gén (alkB) - a legtöbb Gram-pozitív törzssel szemben - az E1 jelű izolátum genomjában csak egy homológ formában van jelen. A továbbiakban kvantitatív real-time RT-PCR reakciókkal igazolni tudtuk, hogy az alkB gén különböző *n*-alkánok hatására valóban igen erősen indukálódik és így kulcsfontosságú a lebontási útvonal korai szakaszában.

MikroBiol_3

Ipari hűtővízrendszerben kialakuló biofilm tenyésztésen alapuló vizsgálata

Szoboszlay Márton

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Bohus Veronika, Dr. Tóth Erika

Ipari létesítmények hűtővíz-rendszereiben széles körben használnak oldott szerves és szervetlen anyagokat csak nyomnyi mennyiségben tartalmazó ultra tiszta vizet. Ez kis ozmózisnyomású, tápanyagszegény közeg, mikrobiális kontaminációja mégis előfordul. Mikroorganizmusok megtelepedése révén a vezetékek belső felületén biofilm képeződhet. Ez nehezíti a hőátadást és a víz áramlását, továbbá teret ad a mikrobák által kiváltott és befolyásolt korrózió fellépésének. Mindez a hatékonyság csökkenéséhez, az üzemeltetési és karbantartási költségek növekedéséhez vezethet.

Munkánk során egy ultra tiszta vizű hűtővízrendszer polifázikus mikrobiológiai vizsgálatának részeként a rendszer póttápvíz előkészítőjében kialakult biofilm bakteriális összetételének felmérését végeztük tenyésztéses módszerrel. Feladatunk, hogy információval szolgáljunk a fennálló működési problémák megoldásáról, és a jövőbeliek megelőzését célzó technológia kidolgozásához.

A tenyésztést R2A, M27 és TSA táptalajokon végeztük. Random izolálást és tisztítást követően 117 baktériumtörzset kaptunk, melyeket membránzsírsav-analízis segítségével csoportosítottunk. A fenon-reprezentáns és a csoportokon kívül eső törzseket parciális 16S rDNS szekvencia-analízissel azonosítottuk.

Módszerünkkel a vizsgált biofilmből elsősorban aerob légző, kemoorganotróf mikrobióta volt kitenyészthető, de fermentációra képes szervezetek is megjelentek. Domináns csoport a Gram-pozitív baktériumoké (*Bacillus* spp., *Staphylococcus epidermidis*, *Lactococcus lactis*, *Leifsonia xyli*, *L. shinsuensis*, *Brevibacterium casei*, *Microbacterium paraoxidans*, *Kocuria marina*), mellettük jelen voltak α - (*Blastobacter denitrificans*, *Bradyrhizobium* sp.) és β -proteobaktériumok (*Ralstonia insidiosa*, *R. pickettii*, *Variovorax paradoxus*) valamint megtalálható a CFB csoport is (*Elizabethkingia meningoseptica*). A *Ralstonia*, *Blastobacter* és *Variovorax* nemzetségekről ismert, hogy egyes törzseik kemolitotrófán növekedhetnek hidrogénhasznosítás mellett, ezáltal szerepük lehet korróziós folyamatokban. A *Staphylococcus*, *Bradyrhizobium*, *Blastobacter* és *Lactococcus* fajokra jellemző a nagy mennyiségű extracelluláris polimer képzése, ami a biofilm kialakulása, struktúráltsága szempontjából nagy jelentőségű.

Eredményeink részben átfednek ultra tiszta vizeket, illetve a bennük kialakuló biofilmeket vizsgáló más kutatásokéival. Legfőbb eltérés ezektől esetünkben a *Bacillus* spp. dominanciája és diverzitása, valamint a γ -proteobaktériumok hiánya. Összegzésként elmondható, hogy a vizsgált biofilmben diverz baktériumközösséget azonosítottunk, ami hozzájárulhat a vezetékek belső felületének károsodásához, ezáltal a rendszerben tapasztalt korróziós problémákhoz.

MikroBiol_3

**Klórozott alifás szénhidrogénekkal szennyezett területek
kármentesítésének nyomon követése klasszikus mikrobiológiai
módszerekkel**

Varga Karolina

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Mészáros Éva, Révész Sára

A klórozott alifás szénhidrogének (pl. triklór-etilén) gyakori talajvízszennyezők Magyarországon, köszönhetően egykori széleskörű alkalmazásuknak az iparban, mezőgazdaságban és háztartásokban. Ezek a vegyületek karcinogének, mutagének, károsak a májra, vesére és tüdőre. Emiatt, és mivel bomlásuk lassú folyamat, nagy problémát jelentenek mind a környezetre, mind a társadalomra nézve. A folyékony halogénezett szénhidrogének sűrűbbek a víznél, vízdoldhatóságuk csekély, nagyobb koncentrációban benne nem oldódnak, így a talajszemcsékhez abszorbeálva, valamint a talajvíz alatt, vízzáró rétegeken megülve halmozódhatnak fel nagy mennyiségben. A hagyományos fizikai illetve kémiai remediációs technológiák csak limitáltan alkalmazhatók ezeknél a szennyezőanyagoknál. A kármentesítésre megoldás lehet az in-situ bioremediáció alkalmazása, mely során elektron donorokat vagy akceptorokat adagolnak a szennyezett talajba a biodegradáció hatékonyságának növelése érdekében. A biológiai kármentesítés során fontos, hogy megismerjük a területre specifikus, tenyésztésbe vonható baktériumtörzseket, melyek szerepet játszanak a szennyezőanyag lebontásában.

Két ipari területről származó, eltérő kémiai összetételű talajvízminták esetében vizsgáltuk a beavatkozás hatásait. Csíraszámolások vizsgálatokat végeztünk MPN módszerrel, valamint többféle táptalajon, aerob és anaerob körülmények között is tenyésztést végeztünk. Random izolálást követően a kapott törzseket molekuláris ujjlenyomat módszerek segítségével csoportosítottuk. A csoportreprezentánsokat pedig teljes 16S rDNS szekvenciájuk alapján szekvencia-analízissel azonosítottuk.

A részletesen feldolgozott kiindulási mintáknál nagy diverzitást tapasztaltunk, minden nagyobb baktérium csoportból (Actinobacteria, Firmicutes, α -, β -, γ -Proteobacteria, Bacteroidetes) izoláltunk törzseket. A kezelés hatására növekvő csíraszámot kaptunk, viszont a mikrobadiverzitás csökkent, a *Pseudomonas* sp. csoport dominanciája volt tapasztalható.

Izolátumaink között több olyan törzs található, melyek irodalmi adatok alapján szerepet játszhatnak a klórozott szénhidrogének bontásában, illetve a deklorináló szervezetek támogatásában, ezek az *Acinetobacter* sp., *Achromobacter* sp., *Arthrobacter* sp., *Brevundimonas* sp., *Flavobacterium* sp., *Pseudomonas* sp., *Sphingobium* sp. és *Sulfurospirillum* sp. csoportokba tartoznak. Ez jó kiindulópont lehet egy esetleges bioaugmentációs kármentesítési technológia kidolgozásához.

Molekuláris biológia I. tagozat

Időpont: Április 9. 09:00

Terem: M épület, 2. terem

A zsűri elnöke: **Prof. Duda Ernő**, egyetemi tanár
Szegedi Tudományegyetem, ÁOK Orvosi Biológiai Intézet

tagjai: **Dr. Révay Tamás**, tudományos főmunkatárs
Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet

Prof. Vonderviszt Ferenc, egyetemi tanár
Pannon Egyetem, Nanotechnológia Tanszék

09:00	Draskovits Gábor	SZTE TTIK	A járulékos genom szerepe az <i>Escherichia coli</i> baktérium hőadaptációs képességében
09:20	Kovács Veronika	SZTE TTIK	A hemoxigenáz gének expressziójának vizsgálata lipopoliszacharid által indukált gyulladási folyamatokban
09:40	Madar Anett	DE TTK	Funkcionális homológia és komplementáció vizsgálata <i>Schizosaccharomyces pombe</i> Mediátor alegységénél
10:00	Paholcsek Melinda	DE TTK	A véletlen szerepe kutatásban: a <i>Streptomyces</i> differenciálódástól az aszpergillózis tesztig
10:20	Pénzes Judit	SZIE ÁOTK	Az atadenovírusok hüllő eredetének bizonyítására irányuló vizsgálatok
10:40	Szünet		
10:50	Róna Gergely	ELTE TTK	A kalpainok sejten belüli lokalizációja és hatása a dUTPázra
11:10	Szedlacsek Orsolya	SZTE TTIK	Az Ada2b gén promóterének analízise <i>Drosophila melanogaster</i> -ben

MolBiol_1

**A járulékos genom szerepe az *Escherichia coli* baktérium
hőadaptációs képességében**

Draskovits Gábor
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Pósfai György, Dr. Boros Imre

Az összehasonlító genomikai vizsgálatok alapján napjainkra általánossá vált a nézet, hogy a baktériumok genetikai állománya két alapvető funkcionális egységre tagolható: ún. „core” és járulékos genomra. A génkészlet mintegy felét kitevő „core” genom az életműködéshez nélkülözhetetlen géneket foglalja magába, míg az ebbe szigetszerűen beépülő, törzsspecifikus járulékos genom a változó környezeti feltételekhez való alkalmazkodáshoz szükséges (egy adott niche betöltése). Munkám során azt vizsgáltam, hogyan befolyásolja a járulékos genom kiiktatása az adaptációs képességet, elsősorban a hőtűrést.

A jelenség tanulmányozásához egyedi lehetőséget nyújtanak a laboratóriumunkban létrehozott redukált genomú *Escherichia coli* törzsek. Mára több mint 70, a járulékos genomot célzó deléció bevitelével a genom méret mintegy 22%-kal csökkent. Így összevethetjük a létrejött multideléciós, megközelítőleg „core” genomú törzseket (MDS) a vad típusal. A magas hőmérsékletre történő adaptáció vizsgálatának gyakorlati vonatkozása is van: biotechnológiai alkalmazás során a fokozott hőtűrés mérsékeli a hűtési igényt, azaz gazdasági előnyt jelenthet.

A tesztek során a 42, 66 és 72 deléciót tartalmazó törzsek (14,5, 20 és 22%-os genomredukció) és a vad típus növekedését hasonlítottam össze különböző hőmérsékleteken (30, 37, 42 °C) és különféle tápfolyadékokban (gazdag és minimál médium). Méréseim szerint 30 és 37 °C-on kissé gyorsabban, 42 °C-on viszont lassabban szaporodnak az MDS-törzsek a vad típusnál. Magas hőmérsékleten végzett ismételt átoltás (2x) esetében egyre fokozottabban jelentkezett ez a fiziológiai adaptációs nehézség. Ugyanakkor sorozatos átoltások (20x) révén genetikailag adaptálódott, hőtűrő mutáns törzs izolálható. A növekedésen kívül a magas hőmérsékleten (50 °C) mutatott túlélést is teszteltem. Nem várt módon a tolerancia fokozódása korrelált a deléciók számának növekedésével.

Az eddigi kísérletekből megállapítható, hogy a járulékos genom elvesztése – várakozásainknak megfelelően – gyengébb fiziológiai adaptációt, ugyanakkor fokozott toleranciát eredményez. Mindez magyarázható a csökkent metabolikus és regulációs repertoárral, illetve az MDS-törzsek genomredukcióból adódó feltételezett, állandó „stresszkészültségével”.

Célunk a molekuláris genetikai okok felderítése, illetve lehetőség szerint a hőtűrés fokozása. Ehhez vizsgáljuk a magas hőmérsékletre adaptálódott mutánst, továbbá a vad típusból és az adaptált mutánsból készített génkönyvtárat MDS törzsekbe juttatva, magas hőmérsékleten szelektálva kívánjuk izolálni azokat a géneket, melyek felelősek a hőtűrés kialakításáért.

MolBiol_1

A hemoxigenáz gének expressziójának vizsgálata lipopoliszacharid által indukált gyulladásos folyamatokban

Kovács Veronika

Szegedi Tudományegyetem, Biológia-környezettan szak

Témavezető: Dr. Hermes Edít

A stresszhatások indukálta válaszadás képessége általános tulajdonsága az élő szervezeteknek. A válaszadásban számos, különböző védekező mechanizmus vesz részt, melyek evolúciósan nagymértékben konzerváltak. Az oxidatív stresszhatásokkal szembeni védekező rendszerek egyik csoportja a hemoxigenázok. A hemoxigenáz enzimek a hem, mint oxidáns faktor biodegradációja, valamint antioxidáns molekulák felszabadítása révén fejtik ki védő szerepüket.

A hemoxigenázoknak három izoformája ismert, melyek közül az alacsony alap expressziójú, stresszhatásokra indukálódó hemoxigenáz-1 (HO-1), illetve a konstitutívan expresszálódó hemoxigenáz-2 (HO-2) a legjobban jellemzett.

A máj az egyik fő méregtelenítő szerv, az itt található Kuppfer sejtek a szervezet legnagyobb makrofág sejtpopulációját alkotják. Elsődleges védelmi vonalként szolgálnak a májat ért támadásokban, mint pl. mikroorganizmusok, endotoxinok okozta gyulladásos folyamatokban. A Kuppfer sejtek működése során számos különböző mediátor molekula szabadul fel, mint pl. reaktív oxigén- és nitrogén gyökök, proinflammatorikus citokinek, melyek további gyulladásos folyamatokat indukálnak. Ennek folytán ezen sejtek fokozott működése szövetkárosodáshoz vezethet. Az epeút elzáródása további szövettani károsodást okoz a májban, megváltoztatja a mikrokörnyezetet, mellyel fokozza az oxidatív stresszt.

Egyes ritka földfémek, mint pl. a gadólińium (Gd) szelektíven gátolják a Kuppfer sejtek működését, ezáltal jótékony hatásúak lehetnek a gyulladásos folyamat visszaszorításában.

Célunk a hemoxigenáz gének expressziójának vizsgálata volt különböző stresszhatásokat követően. Vizsgáltuk bakteriális endotoxin (lipopoliszacharid, LPS) indukálta gyulladásos folyamatokban, epeút-lekötés és GdCl₃ kezelés hatására. A transzkripcionális szintű változásokat reverz transzkripcióval kapcsolt polimeráz láncreakcióval követtük. Ehhez génspecifikus primereket terveztünk, és használtuk őket patkány májból és veséből izolált össz-RNS preparátumokon. A stresszhatásokat követően a hemoxigenáz expresszió gén-, szövet- és stresszspecifitást mutatott. Májban a GdCl₃ kezelés csökkentette az LPS által indukált HO-1 expressziót, így a fémkezelés jótékony hatása valószínűsíthető ebben a szövetben. Ezzel szemben vesében a kombinált kezelés további expressziónövekedést eredményezett.

MolBiol_1

**Funkcionális homológia és komplementáció vizsgálata
Schizosaccharomyces pombe Mediátor alegységénél**

Madar Anett

Debreceni Egyetem, Molekuláris biológus szak

Témavezető: Gálné Dr. Miklós Ida

A gének által kódolt információ előhívásának első lépése a transzkripció, melynek során a DNS bázisai az RNS Polimeráz enzim révén RNS szekvenciába íródnak át. Az egyes gének azonban funkciójuktól függően vagy állandóan átíródnak vagy csak a sejt életének bizonyos szakaszaiban. Azaz finoman szabályozott transzkripció működik a sejtekben, biztosítva azt, hogy egy adott géntermékből adott időben és helyen a sejt számára optimálisan szükséges mennyiség álljon a rendelkezésre. Ebben a szabályzásban komoly szerepe van a Mediátor komplexnek, melynek alegységei és a struktúrája utóbbi években vált ismertté elsősorban a *Saccharomyces cerevisiae*-ben. Az itt összegyűlt információk szintéziséért, az eukarióta transzkripciós szabályzással kapcsolatos alapvető fontosságú felismerésekért kapott Nobel-díjat R.D. Kornberg 2006-ban. Ugyanakkor a Mediátor komplex egyes alegységeinek szerepe, működése még ismeretlen. Ennek feltárása pedig igen fontos lehet, hiszen az újabb vizsgálati eredmények szerint számos emberi betegség hátterében rendellenes transzkripciós szintet mutató gének találhatók.

A Mediátor komplex alegységeiről azt feltételezik, hogy evolúciósan konzervatív fehérjék, ezért kíváncsiak voltunk, hogy a sep10 alegységre is igaz-e ez a feltételezés.

Először megvizsgáltuk BLAST analízissel, hogy milyen fokú homológia van az *Sch. pombe* sep10 protein és a *S. cerevisiae* Med31 proteinje között. A két fehérje 67%-ban hasonlónak bizonyult, ezért megvizsgáltuk, hogy ez jelent-e funkcionális homológiát, azaz képes-e komplementálni az *Sch. pombe* mutáns sejtek fenotípusában tapasztalt rendellenességeket a *S. cerevisiae* Med31 proteinje. Ennek érdekében PCR-rel amplifikáltuk a *S. cerevisiae* Med31-es génjének vad típusú allélját, majd beépítettük egy *Sch. pombe*-ban működő túltermelő vektorba. Ezt a konstrukciót transzformáltuk sep10- mutáns sejtekbe és vizsgáltuk a transzformáns telepek különböző tulajdonságait.

Mivel a *S. cerevisiae* Med31 + pREP41 vektorral transzformált sejtek továbbra is láncos morfológiát mutattak, nem nyerték vissza spórázó képességüket és koffeinnel szembeni érzékenységük sem, így elmondható, hogy a viszonylag nagyfokú hasonlóság ellenére sem történt komplementáció. Azaz a *S. cerevisiae* Med31-es génje nem képes ellátni az *Sch. pombe* sep10- mutáns sejtek kiesett funkcióit, így a funkcionális homológia nem igazolható.

MolBiol_1

**A véletlen szerepe a kutatásban: a *Streptomyces* differenciálódástól
az aszpergillózis tesztig**

Paholcsek Melinda
Debreceni Egyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Biró Sándor

Az *Aspergillus* nemzetségbe tartozó szaprofita fonalas gombák környezetünkben bárhol megtalálhatóak, de opportunistá patogénként csak legyengült immunrendszerű egyéneket képesek megfertőzni. Az elmúlt évtized antifungális terápiájának rohamos fejlődése ellenére is egyre nő az invazív mikózisok száma és a szerv- és csontvelő transzplantációk, kemoterápiás kezelések valamint összejt átültetések során alkalmazott mesterséges immunszuppresszálok ágenseknek köszönhetően továbbra is a fejlett országok legmagasabb morbiditással és mortalitással járó betegségei közé tartoznak. A túlélés feltétele az időben megkezdett antifungális terápia, ami egyáltalán nem meglepő, hiszen adekvát terápia esetében a mortalitás 50%-ra csökken.

Rendkívüli fontossággal bírna továbbá a megelőzés, mely rizikópáciensekre nézve meghatározott időközönkénti folyamatos, költséghatékony mintavételezést és monitorozást feltételez. Nagy jelentőségű továbbá az *Aspergillus*-ok species szintű azonosítása is, mely a célzott gombaellenes terápia elengedhetetlen feltétele, hiszen a különböző fajok eltérően reagálnak adott terapeutikumokra, nem beszélve arról, hogy ily módon valamelyest kontrollálható és csökkenthető a rezisztens gombafajok elterjedése. Megbízható diagnózis felállítása máig is számos nehézségbe ütközik.

Manapság a kereskedelmi forgalomban levő aszpergillózisos betegségek detektálására alkalmas diagnosztikai módszerek lehetnek szerológiaiak, DNS alapúak, ill. ezek kombinációja. Ez utóbbi „hibrid” eljárás előnye abban áll, hogy magában ötvözi a PCR reakciók erősségét képező magas fokú specificitást és a szerológiai módszerekre jellemző nagy érzékenységet. Semmi esetre sem hagyható azonban figyelmen kívül, hogy a szerológiai módszerek gyakran kiugróan magas fals pozitív eredményeket adhatnak.

Eljárásunk egy olyan gén detektálásán alapul, melyet korábban intézetünkben *Streptomyces*ekben azonosítottunk, és amely egyaránt megtalálható az aszpergillózisos esetek 99%-áért felelős *Aspergillus fumigatus* és *A. terreus* fajokban is. Az egyes gomba gének közti szekvencia különbség a törzsek elkülönítésére is lehetőséget ad. Ezen tényeket felhasználva folyamatban van egy olyan rutin diagnosztikai módszer kidolgozása, amely különböző testfolyadékokból származó minták megfelelő feldolgozását követően alkalmas a gén QRT-PCR rendszerben való detektálására, s *A. fumigatus* és *A. terreus* fajok identifikálására. Érzékenysége femtogrammos tartományig terjed és meg egyezik az egyéb QRT-PCR technikák érzékenységeivel. Tekintve, hogy a gén az eddig fellelhető adatbázisadatok alapján más gombákban nem található meg, tehát a kontaminációból eredő fals pozitív eredmények esélye elhanyagolható.

MolBiol_1

**Az atadenovírusok hulló eredetének bizonyítására irányuló
vizsgálatok**

Pénzes Judit
Szent István Egyetem, Biológia BSc szak

Témavezetők: Dr. Benkő Mária, Doszpoly Andor

Az adenovírusok (Adenoviridae) a gerincesekben gyakran található vírusok. A család tagjainak kimutatása a molekuláris módszerek elterjedése előtt csupán szerológiai és elektronmikroszkópos vizsgálatokra korlátozódott. A modern diagnosztikai módszerek fejlődésével és térhódításával mára lehetővé vált a fertőzőtség kimutatása közvetlenül az állatok mintáiból, azonban ezek a vizsgálatok eleinte gazdasági haszonállatokra és emlősökre korlátozódtak. A kutatási terület kiterjesztésével a többi gerinces osztályról is kiderült, hogy valójában mindegyikükben, így a hullókben is előfordulhatnak adenovírusok. Az egyes adenovírus típusok általában szűk gazdaspektrummal rendelkeznek, vagyis minden fajnak lehet saját adenovírusa. Ez teszi őket alkalmassá koevolúciós vizsgálatokra.

A kutatócsoport korábbi eredményei szerint a jelenleg elfogadott négy genus közül az *Atadenovirus* nemzetség képviseli az adenovírusok hullókkal együttfejlődött leszármazási vonalát, noha az első atadenovírusokat kerdzókben és madarakban mutatták ki. Korábban egy kígyóból származó izolátumról a teljes genom analízise és filogenetikai számítások segítségével bizonyították, hogy atadenovírus. Ezen felül több gyík és kígyó mintáinak PCR-es vizsgálata is azt mutatta, hogy e genus tagjai.

Célkitűzésem az volt, hogy újabb bizonyítékokat tárjunk föl az atadenovírusok hulló eredetével kapcsolatban. Az általam vizsgált minták többsége állatkereskedésben elhullott állat volt. Ezek belső szerveiből kivont DNS szűrését végeztem el kétkörös (nested) PCR használatával. A PCR a vírus DNS-polimeráz génjének kb. 300 bázispár hosszú szakaszát erősíti fel. A pozitív mintákból származó DNS-szakaszok nukleotid sorrendjét meghatároztuk, és filogenetikai számítások során törzsfa-rekonstrukciókat végeztünk. Az azonos gazdafajból származó mintákat összehasonlítottuk a vírus egy fajon belüli variabilitásának vizsgálata céljából.

Eddig kilenc hullófaj 13 mintáját vizsgáltam, melyek között voltak kígyók, gyíkok és egy teknős. Ezekből három minta bizonyult pozitívnak a PCR-es vizsgálat során. A szakállas agáma adenovírusa teljes megegyezést egyedül az Egyesült Államokban kimutatott szekvenciával kaptunk. Egy eddig le nem írt szekvenciát sikerült kinyerni a pusztai varánuszából, mely a két szakállas agáma-adenovírussal együtt a törzsfa-rekonstrukció során az *Atadenovirus* nemzetségbe került.

MolBiol_1

A kalpainok sejten belüli lokalizációja és hatása a dUTPázra

Róna Gergely

Eötvös Lóránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Friedrich Péter, Bozóky Zoltán

A kalpainok kalcium ionok által aktivált, intracelluláris cisztein proteázok; melyek igen széles körben elterjedtek az élővilágban, így megtalálhatóak minden eukarióta szervezetben. A kalpain rendszer fiziológiás szerepe még nem teljesen tisztázott, de bizonyítottan szerepet játszik számos sejtleletani folyamatban (sejtosztódás szabályozásában, sejtadhézióban, apoptózisban), valamint különböző betegségekben is (Parkinson- és Alzheimer-kór, izomdisztrófia, II-es típusú diabétesz).

Fiziológiás szerepük jobb megértéséhez elengedhetetlen az őket alkotó egyes szerkezeti elemek funkciójának ismerete, illetve szubsztrátjaik megismerése.

Munkám egy részében a *Drosophila* Kalpain A és Kalpain B-ben található jellegzetes szerkezeti motívumok lehetséges funkciójával foglalkoztam. Főképp rendezetlenséget mutató hajlamuk miatt elsősorban lokalizációban betöltött szerepükre gyanakodtunk. A vizsgált szekvenciareszek mutációval történő elrontásával vizsgáltuk ezen régiók szerepét az intracelluláris elhelyezkedésben.

A kalpainok számos fehérjecsoport tagjainak emésztésére képesek, mint például citoskeletális- és membrán fehérjék, kinázok és foszfatázok, transzkripciós faktorok. Csoportom nemrég számos új kalpain szubsztrátot írt le, melyek között szerepelt a dUTPáz is. A dUTPáz a timidilát metabolizmusban betöltött szerepe miatt központi jelentőségű a kemoterápiás ágensek utáni kutatásban, valamint számos antivirális és antimikrobiális ágens utáni kutatás ígéretes célpontja.

Munkám második felében a dUTPáz és a kalpain kapcsolatának részletesebb megismerésén dolgoztam elsősorban humán, de *Drosophila* rendszerben is. Hipotézisünk szerint a kalpain aktivitás szignifikánsan befolyásolja a dUTPáz funkcióját. Célunk annak kiderítése, hogy a kalpain dUTPáz degradáción keresztül indukál-e apoptózist, és ha igen, kapcsolható-e jól definiált apoptotikus jelekhez.

MolBiol_1

Az Ada2b gén promóternének analízise *Drosophila melanogaster*-ben

Szedlacsek Orsolya
Szegei Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Boros Imre, Dr. Pankotai Tibor

A génexpresszió kezdeti lépésében szükséges a kompakt a kromatin szerkezet felnyílása. A kromatin szerkezet aktív állapotba kerüléséhez a hisztonok N terminális oldalláncain található lizinek acetilációja szükséges. Ezen folyamatok szabályozását végzik a GCN5 tartalmú hiszton acetiltransferáz komplexek, amelyek közül a legjobban jellemzett a SAGA komplex. Csoportunk korábban azonosította és jellemezte a *Drosophila* SAGA (dSAGA) komplexet. Igazoltuk továbbá, hogy a dSAGA komplex felépítésében nélkülözhetetlen az ADA2b fehérje. Az Ada2b mutáció hatására a H3 K9 és K14 acetiláltsági szintje lecsökken, és az állatok elpusztulnak a fejlődés egy jól meghatározott szakaszában.

Mivel az Ada2b gén esszenciális a *Drosophila* egyedfejlődéséhez, ezért célul tűztük ki a gén szabályozásában szükséges promóter szakasz azonosítását. Korábban kimutattuk, hogy az Ada2b gén teljes működéséhez egy a gén előtt található 600 bp-os DNS szakasz elégséges. Munkám során a promóter szakasz további vizsgálatát végeztem el.

A promóter szakasz hosszának megállapításához a szakasz aktivitásának változásait vizsgáltuk luciferáz aktivitásméréssel. PCR amplifikációval létrehoztunk 5 eltérő hosszúságú DNS szakaszt az Ada2b előtt található 600bp-os régióból. Restrikciós endonukleázok használatával a különböző szakaszokat luciferáz riporter gén elé építve, S2 sejtekben mértük a promóter szakaszok aktivitásának változását. Az eredmények alapján meghatároztuk a teljes és minimális promóter szakaszt, ami az Ada2b gén átíródásához szükséges.

Transzkripciós faktor adatbázisok segítségével *in silico* azonosítottuk az Ada2b promóter szakaszhoz kötődő fehérjéket. Ezek alapján a különböző hosszúságú szakaszok aktivitását elemezve megvizsgáltuk, hogy ezek a fehérjék gátló vagy aktiváló szerepet játszanak a promóter szabályozásában.

Vizsgáltuk továbbá az ADA2b fehérje kifejeződését a *Drosophila* egyedfejlődése során. Ehhez GFP-vel jelölt, saját szabályozása alatt álló ADA2b fehérjét termelő *Drosophila* törzset használtunk. A transzgenikus állatokban embrionális és L3 állapotokban GFP immunfestést alkalmaztunk, míg báb állapotban a GFP fluoreszcenciát figyeltük. Eredményeink egyértelműen bizonyították, hogy az ADA2b fehérje embriónális és báb állapotban jelen van, míg az L3 lárvális állapotban a fehérje nem detektálható. Ez alapján arra következtethetünk, hogy az Ada2b gén fontos szerepet tölt be a *Drosophila* embrió fejlődése és a báb állapot során.

Molekuláris biológia II. tagozat

Időpont: Április 9. 15:00

Terem: M épület, 2. terem

A zsűri elnöke: **Prof. Sümegei Balázs**, intézetvezető egyetemi tanár
PTE, Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet

tagjai: **Dr. Marcsek Zoltán**, osztályvezető
Országos Kémiai Biztonsági Intézet, Molekuláris és
Sejtbiológiai Osztály

Dr. Páldi Emil, tudományos tanácsadó
MTA Mezőgazdasági Kutatóintézete

15:00	Ambrus Lídia, Lisztes Erika	DE TTK	A tranziens receptor potenciál vanilloid-3 (TRPV3) aktivációja gátolja a humán szőrtüsző növekedését
15:20	Lisztes Erika, Ambrus Lídia	DE TTK	A tranziens receptor potenciál vanilloid-3 (TRPV3) jelenlétének és funkciójának vizsgálata humán epidermális keratinocytákon
15:40	Boratkó Anita	DE TTK	A PP2A regulátor alegységeinek vizsgálata tüdő artéria endothel sejteken
16:00	Kis Viktor	ELTE TTK	A nevesincs CG6783 gén szerepe az autofágiában és az endocitózisban
16:20	Lakatos Dániel	SZTE TTIK	<i>Drosophila</i> transzkripciók ko-aktivátorok vizsgálata
16:40	Szünet		
16:50	Szabó Angéla	SZTE TTIK	Humán papillómavírusokból származó E6 fehérjék immortalizáló képességének vizsgálata humán fibroblasztban
17:10	Tóth Boglárka	DE TTK	Különböző klinikai manifesztációjú és stádiumú coeliakiás betegek antitestjeinek szöveti transzglutamináz epitóp térképezése
17:30	Vereczkei Andrea	SZIE ÁOTK	A dopaminerg neurotranszmitter rendszer genetikai polimorfizmusainak hatása heroinfüggőségben

MolBiol_2

A tranziens receptor potenciál vanilloid-3 (TRPV3) jelenlétének és funkciójának vizsgálata humán epidermális keratinocytákon

*Ambrus Lídia, Lisztes Erika
Debreceni Egyetem, Molekuláris biológus szak*

Témavezetők: Dr. Bíró Tamás, Borbíró István

A tranziens receptor potenciál vanilloid (TRPV) család tagjai olyan hőérzékeny nemszelektív kationcsatornák, melyek különböző környezeti tényezők (pl. a hőmérséklet, a pH és az ozmolaritás változása) érzékelésére képesek. A TRPV3 ezen csatornák közül a közepes, azaz a 31-39°C közötti hőmérsékleti tartományban aktiválódik. A receptor-csatorna emellett monoterpenoid vegyületekkel is stimulálható, mint pl. a növényi eredetű eugenol, thymol és carvacrol (melyek rendre a szegfűszeg, a kakukkfű és az oregánó fenoljai).

Rágcsálók bőrét vizsgálva kimutatták, hogy a TRPV3 kifejeződik a bőr epidermális keratinocytáiban, valamint, hogy részt vesz a hajciklus szabályozásában. Nem rendelkezünk ugyanakkor adatokkal arról, hogy a csatorna megtalálható-e a humán bőr különféle sejtjein, valamint, hogy milyen sejt-folyamatok szabályozásában vehet részt.

Kísérleteink során ezért a TRPV3 kifejeződését és funkcionális szerepét vizsgáltuk humán epidermális keratinocytá modelleken. Kísérleteink során először sikerrel igazoltuk a TRPV3 protein (immuncitokémia, Western blot) és génszintő (Q-PCR) jelenlétét humán immortalizált epidermális HaCaT keratinocytákon (pozitív kontrollként egér 308 keratinocytá K308 sejt vonalat használtunk). Fluorimetriás méréseink során kimutattuk, hogy az eugenol, a thymol és a carvacrol dóziszfüggően és tranziensen növelte a sejtek intracelluláris Ca^{2+} -koncentrációját, mely a csatorna funkcionális aktivitására utalt. MTT-alapú kolorimetriás assay segítségével emellett megállapítottuk, hogy a fenti anyagokkal való több napos kezelés dóziszfüggő módon csökkentette a sejtek életképességét. Az életképességcsökkenés hátterében álló lehetséges folyamatokat fluorimetriás mérésekkel vizsgálva kimutattuk, hogy a fenti növényi TRPV3-aktivátorok jelentősen fokozták az apoptotikus folyamatok intenzitását, ugyanakkor nem váltottak ki nekrotikus sejthalált.

Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy a humán bőr epidermális keratinocytái funkcionálisan aktív TRPV3 csatornával rendelkeznek, melynek aktivációja – feltehetően az intracelluláris Ca^{2+} szint növelése révén – központi szereppel bír a sejtek túlélésének szabályozásában. Ezek alapján felmerül a TRPV3 molekula terápiás alkalmazásának lehetősége különféle, a keratinocyták fokozott proliferációjával jellemzett kórképek (pl. pikkelysömör, daganatok) esetleges kezelésében.

MolBiol_2

**A tranziens receptor potenciál vanilloid-3 (TRPV3) aktivációja
gátolja a humán szőrtüsző növekedését**

*Lisztes Erika, Ambrus Lídia
Debreceni Egyetem, Molekuláris biológus szak*

Témavezetők: Dr. Bíró Tamás, Borbíró István

A tranziens receptor potenciál vanilloid (TRPV) család tagjai olyan hőérzékeny nemszelektív kationcsatornák, melyek különböző környezeti tényezők (pl. a hőmérséklet, a pH és az ozmolaritás változása) érzékelésére képesek. A TRPV3 ezen csatornák közül a közepes, azaz a 31-39°C közötti hőmérsékleti tartományban aktiválódik. A receptor-csatorna emellett monoterpenoid vegyületekkel is stimulálható, mint pl. a növényi eredetű eugenol, thymol és karvakrol (melyek rendre a szegfűszeg, a kakukkfű és az oregánó fenoljai).

Rágcsálók bőrét vizsgálta kimutatták, hogy a TRPV3 kifejeződik a bőr epidermális keratinocytáiban, valamint a szőrtüszőben. Bebizonyosodott továbbá, hogy a molekula jelentős mértékben részt vesz a hajciklus szabályozásában is. Nem rendelkezünk ugyanakkor adatokkal arról, hogy a csatorna megtalálható-e a humán szőrtüszőben, valamint, hogy hogyan befolyásolja a szőrtüsző biológiai folyamatait. Kísérleteink során ezért a TRPV3 kifejeződését és funkcionális szerepét vizsgáltuk humán izolált szőrtüsző szervkultúra modellen.

Kísérleteink során először sikerrel igazoltuk a TRPV3 protein (immunhisztokémia) és génszintű (Q-PCR) jelenlétét humán szőrtüszőben, főként a külső gyökérhüvely és mátrix keratinocytákban. Kimutattuk, hogy természetes (eugenol, thymol, karvakrol) és szintetikus (2-amino-etoxi-difenil-borát) TRPV3 aktivátorok dóziszfüggő módon gátolták a szőrszál növekedését, valamint lecsökkentették a proliferáló (Ki-67 nukleáris proliferációs markert kifejező) sejtek számát. Bebizonyosodott továbbá, hogy ezzel párhuzamosan a TRPV3 aktivációja jelentősen növelte az apoptózist (DNS-fragmentációt kimutató TUNEL reakció) intenzitását, valamint regressziós folyamatokkal jellemezhető katagén transzformációt indukált.

Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy a humán szőrtüsző bizonyos sejtei TRPV3 csatornával rendelkeznek, mely jelentős szerepet tölthet be a humán szőrtüsző növekedésének (így a hajciklus folyamatainak) szabályozásában. Ezek alapján felmerül a TRPV3 molekula terápiás alkalmazásának lehetősége megváltozott szőrnövekedéssel (hajciklussal) járó kórképek (pl. hirsutismus, hypertrichosis, alopecia) esetleges kezelésében.

MolBiol_2

A PP2A regulátor alegységeinek vizsgálata tüdő artéria endothel sejteken

Boratkó Anita

Debreceni Egyetem, Molekuláris biológus szak

Témavezetők: Dr. Csontos Csilla, Kása Anita

A citoskeletális és intracelluláris fehérjék foszforilációs állapota befolyásolja a citoskeleton elemeinek szerveződését, ezáltal az erek belső falát borító endothel sejtek kontrakciós állapotát és az endothel barrier funkciót. Korábban kimutattuk, hogy a protein foszfatáz 2A (PP2A) részt vesz a barrier funkció szabályozásában és a citoskeleton rendeződésében. Az enzim vázát egy 36 kDa-os katalitikus (PP2Ac) és egy 65 kDa tömegű regulátor alegység (PP2Aa) alkotja. A PP2Ac és a PP2Aa alegységeket emlős expressziós vektorokba klónoztuk, a konstrukciókkal humán tüdő artéria endothel sejteket transzfektáltunk és overexpresszáltuk a fehérjéket. A PP2Aa és PP2Ac overexpressziója és a két alegység koexpressziója az aktin filamentumok újrarendeződését eredményezte. Jelentősen csökkentette a trombin vagy nokodazol által kiváltott F-aktin stresszkábelek kialakulását és a mikrotubulus depolimerizációt.

A PP2A dimerhez egy B alegység is kapcsolódik, melynek több formáját ismerjük. A B alegységek a holoenzim specifikitását és a sejtben belüli lokalizációját határozzák meg. Jelenlegi munkánkban a PP2Ab és PP2Ab', PP2Ac, PP2Aa illetve HSP27 konstrukciókkal transzfektáltunk marha tüdő artéria endothel sejteket, és a fehérjék overexpresszióját immunfluoreszcenciával, illetve Western blottal vizsgáltuk. Az overexpresszált HSP27 a citoplazmában jelenik meg, míg a rekombináns PP2A alegységek többnyire a sejtmagban lokalizálódnak; továbbá a PP2Ab' overexpressziója a sejtek morfológiai változását okozza. A HSP27 és a PP2Ac ko-expressziója során a két fehérje ko-lokalizációja figyelhető meg a sejtmagban, amely trombin kezelés hatására csökken: a HSP27 a citoplazmában is megjelenik. Pull down kísérleteinkben kimutattuk, hogy a PP2Ac alegység kötődik a PP2Aa alegységhez és Hsp27-hez.

A PP2Ab szerepének tanulmányozását a továbbiakban az endogén fehérje immunfestésével illetve siRNS technikával depletált sejtekben folytatjuk. Vizsgálataink a tüdő artéria endothelium barrier funkció szabályozásának jobb megértését segítik elő.

MolBiol_2

**A nevesincs CG6783 gén szerepe az autofágiában és az
endocitózisban**

Kis Viktor

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Csikós György

Az autofágia az eukarióta sejtek ősi, erősen konzervált intracelluláris lebontó folyamata. Esszenciális szerepe van az előregedett sejtorganellumok, a szükségtelen vagy káros fehérjék eltávolításában és anyagainak reciklizációjában, továbbá a sejtet ért stresszhatások (pl.: éhezés, oxidatív stressz) és a szervezetbe jutott patogének (vírusok, baktériumok, paraziták) elleni védekezésben. Azzal, hogy a sejt autofágiával kivédi azokat a káros hatásokat, melyek apoptózist indukálnának és így a sejt halálát eredményeznék, citoprotektív funkcióval (is) bír, ezzel a sejt túlélését szolgálja. Abnormális működését számos patológiás folyamatban kimutatták, valamint azt is, hogy az öregedéssel párhuzamosan az autofág kapacitás csökken. Ugyanakkor fejlődő, differenciálódó szervezetben a szükségtelenné vált sejtek tömeges eliminálása is autofágiával megy végbe, ezért ezt a folyamatot a programozott sejthalál kettes típusának is tekintik. Az autofágia tehát kétarcú folyamat, jelenthet túlélést, de pusztulást is a sejt számára, ezért mechanizmusának megértése kulcsfontosságú terápiás lehetőségeket rejt magában. Az autofágia molekuláris mechanizmusa jól tanulmányozható funkcióvesztéses mutációt hordozó *Drosophila* törzsek vizsgálatával.

Munkánk során P és EP-elemmel (módosított transzpozonnal) mutagenizált, késői lárvaletalitást mutató törzseket vizsgáltunk, amelyek közül gyors fénymikroszkópos teszttel kiválogattuk azokat a vonalakat, melyekben a lárvális zsírtestből hiányoztak a fiziológiásan megjelenő, autofágiára és endocitózisra jellemző struktúrák.

Vizsgálataimat ezen vonalak egyikén, az EP(3)3252-n végeztem, amelyben az EP-elem inszerció a CG6783 gént érintette, ami egy eddig nem jellemzett zsírsavkötő fehérjét kódol. A mutáns törzs fény- és elektronmikroszkópos vizsgálata egyértelműen igazolta az autofág- és endocitotikus struktúrák hiányát a lárvális zsírtestsejtekben. A gént érintő független EP-s vonalak vizsgálatával és deleciós keresztezéssel ellenőriztük, hogy kizárólag ez az egy EP-elem inszerció áll a mutáns fenotípus hátterében. RT-PCR-el és Western-blottokkal igazoltuk, hogy az EP(3)3252 törzsben a CG6783 génről nem képződik mRNS és fehérje. A CG6783 egy adott exonjára RNAi konstrukciót hordozó transzgen vonalakban a gént a poszt embrionális fejlődés végen csendesítve elő tudtuk idézni a mutáns fenotípust. Immunhisztokémiai vizsgálatokkal kimutattuk, hogy a géncsendesített állatok képtelenek a lárvális szérum fehérjék endocitotikus felvételére és protein granulomok képzésére, amely igazolja a gén szerepét az endocitózisban is.

A gén egy transzkriptumára készített GFP-riporter konstrukcióval a géntermék lokalizációját vizsgáltuk, normál fluoreszcens és lézerkonfokális mikroszkópiával. A fehérje diszkrét granuláris jelölést adott, mely erősen kolokalizált az autofág eredetű struktúrákkal. A fenti vizsgálatok egybehangzóan alátámasztják, hogy a CG6783 gén szerepet játszik az autofágiában és az endocitózisban.

MolBiol_2

***Drosophila* transzkripciók ko-aktivátorok vizsgálata**

Lakatos Dániel
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Boros Imre, Zsindely Nóra

Az eukarióta transzkripció szabályozásában alapvető szerepe van a kromatin szerkezetet módosító folyamatoknak, így a nukleoszómális hiszton fehérjék posztranszlációs módosításainak is. Az egyik legintenzívebben tanulmányozott ilyen módosítás a hisztonok amino-terminális végének acetilációja, amely révén a kromatin szerkezet fellazul, és lehetőség nyílik a transzkripcióra. A hisztonok acetilációját hiszton acetil-transferázok (HAT) végzik, melyek legismertebb csoportja a GCN5 fehérjével homológ HAT-okat tartalmazó GNAT szupercsalád. A HAT komplexek felépítésében számos koaktivátor és adaptor fehérje is részt vesz. Ilyen adaptorok az ADA3 és az ADA2, amelyek a GCN5 kölcsönható partnerei annak szinte valamennyi ismert komplexében.

Drosophila melanogaster-ben két ADA2 fehérjét (ADA2a és ADA2b) azonosítottak, amelyek szekvenciájuk nagyfokú homológiája ellenére eltérő HAT komplexek, az ATAC és a SAGA felépítésében vesznek részt. Az ADA2-vel szemben az ADA3 adaptor fehérje mindkét komplex alegysége. A SAGA és az ATAC hiszton specifitása eltérő: a SAGA a H3K9 és K14, míg az ATAC a H4K5 és K12 aminosavakat acetilálja. Ezen komplexek szerepe sokoldalú, munkám során a sejtosztódásban és immunitásban játszott funkciójukat vizsgáltam *Drosophila*-ban.

A SAGA és ATAC sejtosztódásra gyakorolt hatását imaginális diszkszok mitózisra specifikus immunfestésével, és orceinnel festett agypreparátumokon vizsgáltam. Megállapítottam, hogy az Ada3- és az Ada2a mutáns lárvákban a mitotikus index, vagyis a mitózisban lévő sejtek aránya csökken. Kimutattam, hogy az Ada3 mutánsokban nem csak a mitotikus index csökken kétharmadára, hanem arányait tekintve kevesebb ana- és telofázisban lévő sejt van. Ezzel szemben Ada2b mutánsokban a mitotikus index megnő, mintegy egyharmaddal a vad típushoz képest, viszont az ana- és telofázisú sejtek aránya itt is lecsökken. Adataim szerint a GCN5 tartalmú HAT komplexek hatással vannak a mitózisra: a SAGA komplex egyik adaptorának hiánya a mitotikus indexet növeli, míg az ATAC komplexben szerepet játszó adaptorok mutációja ezt csökkenti; a mitózis lefolyására gyakorolt hatásuk viszont hasonló.

Egy független kísérletsorozatban a SAGA immunitásban játszott szerepét vizsgáltam. Ada2b deléziós mutánsok teljes mRNS profil vizsgálata a *Drosophila* kórokozók elleni védelmében alapvető szerepet játszó, anti-mikrobiális peptidek (AMP) erőteljes aktivációját mutatta. Ennek *in vivo* megerősítésére olyan riportter konstrukciókat használtam, ahol az GFP fluoreszcens fehérje az AMP promóterek hatása alatt képződik. Kimutattam, hogy ADA2b hiányában az GFP, vagyis az AMP-k expressziója jelentősen megnő. Eredményeim megerősítik, hogy a SAGA által végzett acetiláció szerepet játszik a *Drosophila* immunitásában.

MolBiol_2

**Humán papillómavírusokból származó E6 fehérjék immortalizáló
képességének vizsgálata humán fibroblasztban**

Szabó Angéla
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Tubak Vilmos, Dr. Boros Imre

A humán papillómavírusok több mint 100 altípussal rendelkező család, egyes altípusai köztudottan a második leggyakrabban előforduló rosszindulatú rákot okozzák a nők körében, világszerte. Statisztikai adatok alapján évente félmillió új esetet regisztrálnak, melynek mintegy fele halállal végződik. 2006-ban elfogadtak két mára már nálunk is kapható vírus ellenes preventív vakcinát, melyek a tumort okozó, magas kockázatú altípusok közül kizárólag kettő, a 16-os és 18-as ellen véd hatékonyan. A vírus és az általa okozott tumorok képződéséhez vezető út világszerte kutatott téma; 2008-ban Harald zur Hausen pedig megosztva Orvosi Nobel-díjat kapott, aki már az 1970-es években rámutatott a vírus és a méhnyakrák közti közvetlen összefüggésre.

Kutatásunk célkitűzése az volt, hogy megvizsgáljuk, vajon képes-e a 16-os altípuson kívül más, a magas kockázatú altípusokból származó E6 fehérje *in vitro* a gazdasejtet immortalizálni. Az E6 tumort okozó fehérje számos funkcióját leírták már, többek között keratinocyta immortalizáló hatását, amit eddig csak a HPV16 altípusnál mutattak ki, melyet a p53 tumorszuppresszor fehérje fokozott proteozomális degradációjával ér el.

Ennek megválaszolására a HPV16, 31 altípusok E6 génjeit eukarióta expressziós plazmidba klónoztuk, annak eukarióta gazdasejtbe, az általunk használt humán fibroblasztba transzfektáltuk. Az immortalizált sejtek szelekciója után, az adott E6 gén jelenlétének kimutatása történt PCR reakcióval. A p53 funkció analizésére a p21/WAF gén – a p53 mint transzkripció faktor targetjének – promotér régiójával fuzionáltatott luciferáz riportergént tartalmazó plazmidot használtuk.

Eredményeinket összefoglalva elmondhatjuk, hogy a HPV16 és 31 altípusok E6 génjének túlexpresszáltatásával sikerült elsődleges emberi fibroblasztot immortalizálni. A transzgének jelenlétét PCR-rel igazoltuk. A p53 gén transzkripció aktivitásának csökkenését a HPV16 és HPV31 altípusokból származó E6 fehérjével immortalizált sejtvonalba sikeresen bebizonyítottuk.

A továbbiakban kísérleteket tervezünk a HPV33 altípus E6 fehérjének immortalizáló hatásának vizsgálatára. Ezen kívül kívánjuk igazolni a sejtvonalakban az E6 gének aktivitását valós idejű PCR reakcióval. Annak igazolására, hogy a sejtimmortalizációt valóban az E6 fehérje jelenléte okozza, altípusonként E6 génre tervezett kis interferáló RNS-ekkel szeretnénk a géncsendesítést elérni. Reméljük, hogy eredményeink hozzájárulhatnak egy altípusra specifikus tesztrendszer létrehozásához, amely egy hatékony terápiás gyógymód alapjait teremtheti meg.

MolBiol_2

Különböző klinikai manifesztációjú és stádiumú coeliákiás betegek antitestjeinek szöveti transzglutamináz epitóp térképezése

*Tóth Boglárka
Debreceni Egyetem, Molekuláris biológus szak*

Témavezetők: Dr. Fésüs László, Dr. Korponay-Szabó Ilma

A coeliákia a vékonybél egyik leggyakrabban előforduló malabszorpciós szindrómája. Az arra genetikailag fogékony egyéneknél a táplálkozás során bevitt gliadinok – ezek a búza, rozs és árpa jól meghatározott fehérje-frakciói – autoimmun folyamatot indukálnak. Emiatt a vékonybél hámszövetében gyulladás, boholy-atrófia, illetve kripta-hiperplázia alakul ki. 11 éve egyértelművé vált, hogy a TG2 meghatározó szerepet játszik a kóros folyamatok elindításában: a gliadin-peptidek deamidálása révén autoreaktív T-sejt klónok keletkezését eredményezi. Emellett a TG2 a betegség fő autoantigénje is. Jelenleg tisztázásra vár, hogy melyik a fő coeliákiás TG2-epitóp, illetve, hogy a betegség különböző szakaszaiban termelődő antitestek szerkezete állandó-e – azaz mindig ezt a feltételezett epitópot ismerik-e fel az antitestek –, vagy változik.

Eredményeim szerint a fő epitóp konformációs, három domént is érint – az N-terminális domént, a core-domént, illetve az egyik C-terminális domént –, ahogy azt korábbi közlemények feltételezték. A követéses jellegű vizsgálatok összegzéseként pedig az mondható el, hogy a GMD-t betartó coeliákiások (medián: 1,25 év, range: 1-3 év) antitestjei a feltételezett epitóphoz kötődtek a terhelés után is. Ez is alátámasztja az epitóp valódiságát.

A GMD-t nem vagy rosszul tartó betegek (medián: 2,5 év, range: 1-3,5) antitestjeinek szerkezetében valószínűleg változás történik, az egyenletlen antigén-inger hatására valószínűleg az antigén újabb – az epitópon kívüli – molekulárisrészeire is reagálnak, de az is lehetséges, hogy nincs változás.

MolBiol_2

**A dopaminerg neurotranszmitter rendszer genetikai
polimorfizmusainak hatása heroinfüggőségben**

Vereczkei Andrea

Szent István Egyetem, Alkalmazott zoológus szak

Témavezetők: Dr. Barta Csaba, Dr. Kabai Péter

A heroinfüggőség komoly társadalmi és közösségi probléma. A komplex betegségek közé tartozik, hiszen kialakulásában genetikai és környezeti faktorok egyaránt szerepet játszanak. Habár korábbi tanulmányok kimutatták, hogy több génnek is szerepe lehet a függőség kialakulásában, ezen géneknek önmagukban kis hatásuk van. A dopaminerg rendszer az agy jutalmazó központjának része, ezért a neurotranszmisszióban részt vevő receptorok génjeit a függőség kandidáns génjeinek tartják.

Eset-kontroll vizsgálatunkban hét dopamin-, illetve szerotonin-kapcsolt génnek összesen 16 polimorfizmusát vizsgáltuk 300 heroinfüggő és 555 egészséges kontroll összehasonlításával. A vizsgált polimorfizmusok a dopamin D4-es receptor gén (DRD4) kódoló régiójának (3-as exon VNTR – változó számú egymás után ismétlődő régiók), illetve 5' régiójának (-521CT, -616CG, -615AG SNP-k - egyponos nukleotid variációk - és a 120 bázispár duplikáció) polimorfizmusai; a dopamin transzporter (DAT) 3' VNTR és 8-as intron VNTR polimorfizmusai; a szerotonin transzporter (SERT) 5' régiójának (5-HTTLPR) és a 2-es intronjának (STin2) polimorfizmusai; a katekol-O-metiltransferáz (COMT) 158 AG SNP polimorfizmusa; a monoamino-oxidáz (MAO-A) 5' VNTR polimorfizmusa; a butiril-kolinészteráz (BCHE) gén K-variánsa és az 1914 polimorfizmusa, illetve a dopamin D2-es receptor (DRD2) TaqIA, TaqIB és TaqID polimorfizmusai. Ezen három Taq polimorfizmus állt a kutatásom középpontjában.

A heroinfüggő betegek mintái a Fővárosi Önkormányzat Nyíró Gyula Kórházból, az Országos Pszichiátriai és Neurológiai Intézetből, illetve a Dr. Farkasinszky Terézia Ifjúsági Drogcentrumból származtak. A DNS-ek elemzését a Semmelweis Egyetem Orvosi Vegytani, Molekuláris Biológiai és Pathobiokémiai Intézetében végeztem.

Az eredmények szignifikáns kapcsolatot mutattak a DRD2 TaqIA és TaqIB polimorfizmusai illetve a heroinfüggőség között. A heroinfüggő, illetve a kontroll minták közt szignifikánsan eltérő genotípus- és allélgyakoriságok tehát arra engednek következtetni, hogy a vizsgált magyar minták esetében ezen polimorfizmusok hozzájárultak a heroinfüggőség kialakulásához.

Molekuláris biológia III. tagozat

Időpont: Április 8. 15:00

Terem: M épület, 2. terem

A zsűri elnöke: **Dr. Galiba Gábor**, osztályvezető
MTA Mezőgazdasági Kutatóintézete

tagjai: **Dr. Endre Gabriella**, tudományos főmunkatárs
MTA Szegedi Biológiai Központ, Genetikai Intézet

Dr. Venekei István, egyetemi docens
Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biokémiai Tanszék

15:00	Éva Csaba	ELTE TTK	Egy <i>Arabidopsis</i> aldo-keto reduktáz enzimet termelő transzgenikus árpa előállítás
15:20	Horváth Judit Krisztina	SZTE TTIK	Az APC/C komplex Cdc26 alegységének azonosítása és jellemzése <i>Drosophila melanogaster</i> ben
15:40	Kovács Tímea Katalin, Törő Gábor	DE TTK	Transzgenikus PAF (Penicillium antifungális protein) termeltetés dohányban
16:00	Nagy Zsuzsanna	DE TTK	Melanoma malignum sejtek TASK-3 expressziójának gátlása shRNS vektorral végzett stabil transzfeccióval
16:20	Schmidthoffer Ildikó, Bali Judit, Pecérkeova Marianna	NYME TTMK	Egy indukálható magi szignál jellemzése
16:40	Szünet		
16:50	Sipos Márk György	SZTE TTIK	Molekuláris markerek alkalmazásával azonosított levélrozsdarezisztenciagének búzában
17:10	Szénási Tibor	SZTE TTIK	A matrilin-1 gén transzkripció szabályozásának vizsgálata kotranszfecció kísérletekben
17:30	Varga Richárd Sándor	NYF TTFK	Élelmiszerminták genetikailag módosított szója összetevőinek vizsgálata

MolBiol_3

Egy *Arabidopsis* aldo-keto redukáz enzimet termelő transzgénikus árpa előállítás

Éva Csaba

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Tamás László

Az árpa (*Hordeum vulgare* L.) fontos termesztett növényünk, de ezen kívül egyszikű genetikai modellnövényé kezd válni a rizs mellett, mivel szintén jól transzformálható bioliztikus és agrobaktériumos módszerrel is.

Az AKR-enzimek széles szubsztrátspecificitásúak, aldehideket és ketonokat redukálnak a megfelelő alkohollá. Növényekben főleg általános stresszvédő funkciójuk ismert, amit reaktív aldehidek (pl. 4HNE) semlegesítésén és polialkoholok (ozmotikumok) termelésén keresztül fejtenek ki. A Szegedi Biológiai Központban *Arabidopsis thaliana* akr génekről is gyűjtöttek információt, T-DNS inszerció adatbázisból. Egy általuk kiválasztott gént használtunk az árpa agrobaktériumos transzformálása során, melynek nullzígóta knock-outja letális az *Arabidopsis* növény esetében, és a heterozigóták is lelassult növekedést mutatnak, így igen fontos szerepet tölthet be.

Célunk hosszútávon, az SZBK-val együttműködésben, hogy felderítsük, milyen hatást eredményez az említett *Arabidopsis*-eredetű akr gén terméke az árpa stressztűrő képességére, és hogy tovább optimalizáljuk nemrégén meghonosított transzformációs rendszerünket. Az eddigi munka során a transzgénikus árpanövények előállítására törekedtünk.

A gént agrobaktériumos transzformációval, erős konstitutív promóter mögé építve juttattuk be éretlen embriókba, majd azokból szövetyenyéztéssel növényeket regeneráltunk. A gént a fehérje kimutatását és tisztítását segítő, His-taggal láttuk el. Két konstrukciónk is készült: 3' végén His-taget tartalmazó génváltozattal és 5' végén His-taget tartalmazó génváltozattal, mivel csökkenteni kívánjuk annak az esélyét, hogy a His-tag befolyásolja az enzimaktivitást. A transzgénikus növényeket DNS (PCR), RNS (RT-PCR), és fehérje szinten (SDS PAGE és Western blot) is megvizsgáltuk. A módszertani kísérletek során a ko-kultivációs táptalajba kevert különböző segédanyagok hatását teszteltük a transzformációs hatékonyságra, uidA gén tranziens expresszióján keresztül.

A transzgén 3' végén His-taget tartalmazó konstrukcióval sikeres transzformálást hajtottunk végre, elfogadható hatékonysággal (5%). Az első utódgenerációt is felneveltük. Egy kiválasztott vonalban nagy számú utódot vizsgáltunk meg, és az eredmények alapján a transzgén Mendel törvényei szerint öröklődött. A gén transzkripcióját az összes vizsgált vonalban bizonyítottuk. Két vonalban a termelt fehérjét is sikerült kimutatnunk. Az 5' végén His-taget tartalmazó konstrukcióval is transzformáltunk, itt a szövetyenyéztési fázisban tartunk. Az optimalizálási munkák során a ko-kultivációs táptalajba kevert cisztein és acetosziringon pozitív hatását mutattuk ki a transzformációs hatékonyságra.

MolBiol_3

Az APC/C komplex Cdc26 alegységének azonosítása és jellemzése *Drosophila melanogaster*-ben

Horváth Judit Krisztina
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Deák Péter, Dr. Boros Imre

A sejtciklus folyamatában a kromoszóma szegregáció és a mitózisból való kilépés kulcsregulátora az APC/C (anaphase promoting complex/cyclosome), amely egy ubiquitin ligáz aktivitással rendelkező fehérje komplex. Ez a komplex mitotikus fehérjéket jelöl ki proteaszómális lebontásra poli-ubiquitin láncok kapcsolásával. Az APC/C legalább 11 alegységből épül fel, amelyek többsége az élesztőtől az emberig evolúciósan konzerválódott. Az egyes alegységek szerepe még nem tisztázott a komplexen belül.

Noha az APC/C komplex Cdc26 alegységét élesztőkben és humán sejtekben is kimutatták korábban, a *Drosophila* genom szekvencia-analízise és annotálása során, meglepő módon ezt az alegységet nem azonosították. Az említett két fajból származó Cdc26-specifikus szekvenciák lokális illesztésével, a *Drosophila* genomban azonosítottunk két gént, amelyek által kódolt fehérjék kb. 30 aminosavból álló N-terminális része jelentős konzerváltságot mutatott az élesztő és a humán Cdc26 fehérjékkel. Kimutattuk, hogy egyikük, a CG17343 jelű gén 5'-végi nem transzlálódó régiójában azonosított P-elem inszerció gátolja a génexpressziót. Az inszerció homozigóta állatok egyedfejlődése báb stádiumban megreked. Lárva agypreparátumaik citológiai vizsgálata jellegzetes mitotikus fenotípusról tanúskodik, amelyre túlkondenzálódott kromoszómák, magas mitotikus index és magas metafázis-anafázis arány, valamint poliploid sejtek gyakori megjelenése jellemző. Ezek a fenotípus jegyek a sejtciklus metafázis szerű gátlására utalnak, és nagyon hasonlóak az eddig vizsgált APC alegységeket kódoló létfontosságú gének mutáns fenotípusaihoz. A CG17343 gén 5' nem transzlálódó régiójába inszertálódott P-elem nem precíz eltávolításával deléciós mutánst hoztunk létre.

A másik, szintén szekvencia homológiát mutató gén (CG3457) eltávolítása nem okoz detektálható változást az állatok fenotípusában, beleértve életképességüket és fertilitásukat is.

A tapasztalt mutáns fenotípus jegyek és a kimutatott szekvencia hasonlóság arra utalnak, hogy a CG17343 gén kódolja a *Drosophila* APC/C Cdc26 alegységének homológiát.

MolBiol_3

Transzgénikus PAF (*Penicillium* antifungális protein) termeltetés dohányban

Kovács Tímea Katalin
Debreceni Egyetem, Molekuláris biológus szak

Törő Gábor
Debreceni Egyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Fári Miklós, Miskei Márton, Dr. Mészáros Ilona

A RET- Regionális Tudásközpont – „Molecular farming” program keretében 2005 és 2006 nyarán PAF antifungális proteinnel transzformált dohány növény előállítási kísérletek indultak meg az Amerikai Egyesült Államokban (Waksman Institute Rutgers, The State University of New Jersey). Modellnövényként a dohányt (*Nicotiana tabacum*) választottuk, mert ismert a teljes DNS szekvenciája. Mivel ez már egy ismert rendszer, így könnyen lehet vele dolgozni.

A cél különböző konstruktok létrehozása volt, amelyeknél a PAF különböző helyeken lokalizálódik az expresszió után megfelelő szignál szekvenciák használatával, valamint a kloroplasztisz transzformálás módszerének elsajátítása. Ez a módszer Magyarországon még nem ismert. Célunk a kloroplasztiszban nagy mennyiségű PAF előállítása.

A nukleáris transzformáció során az *Agrobacterium tumefaciens* természetes génátviteli rendszerét használva építettük be a növény nukleáris genomjába a paf gént különböző konstrukciókban. A feltételezett transzformánsokból DNS és RNS kivonást végeztünk. PCR technikával és szekvenálással bizonyítottuk a paf gén jelenlétét, illetve transzkripcióját a dohány növényben. A növényekből kivont DNS-t PCR-al teszteltük, majd a felszaporított szakaszokat szekvenáltattuk.

A nukleáris transzformánsoknál mind a hat konstrukt esetében igazoltuk, hogy a transzformációs vektor beépült a növény genomjába, tehát a növény transzgénikus.

Megtanultuk és alkalmaztuk a Waksman Institute Rutgers-ben kidolgozott kloroplaszt transzformációs eljárást, amelyet Magyarországon még nem alkalmaznak. Az ott elkészített PAF szekvenciákat (Pro-mature-PAF, mature-PAF) tartalmazó kloroplaszt transzformációs vektorokat juttattuk be dohány növénybe génpuska segítségével. A kloroplasztisz transzformációja során a Waksman Institute Rutgers-ben elkészített PAF szekvenciákat tartalmazó kloroplaszt transzformációs vektort juttattuk be dohány növénybe génpuska segítségével. Jelenleg a feltételezett transzformáns növények ellenőrzése folyik.

MolBiol_3

Melanoma malignum sejtek TASK-3 expressziójának gátlása shRNS vektorral végzett stabil transzfekcióval

*Nagy Zsuzsanna
Debreceni Egyetem, Molekuláris biológus szak*

Témavezetők: Dr. Rusznák Zoltán, Kosztka Livia

A TASK-3-csatornák potenciális onkogén hatású molekulák; már több rosszindulatú daganattípusban leírták a fehérje génjének (*kcnk9*) amplifikációját és a fehérjetermék overexpresszióját. Korábbi kísérleteink során megállapítottuk, hogy a melanoma malignum sejtek erős TASK-3-specifikus jelölődést mutatnak.

Jelen munkában létrehoztunk egy olyan melanoma malignum sejtenyészetet, amelyben a TASK-3 csatornafehérje kifejeződését egy TASK-3-specifikus shRNS kazettát expresszáló, szelekciós markereket tartalmazó vektor segítségével stabilan meggátoltuk. A kísérletek során egy korábbi munkánk során megtervezett TASK-3-specifikus shRNS kazettát, valamint egy negatív kontrollként alkalmazott "scrambled" shRNS szekvenciát építettünk be a pRNAT-U6.1/Neo cGFP shRNS expressziós vektorba. Az elkészített plazmidkonstrukciót kompetens *E. coli* baktérium törzsben felszaporítottuk, majd plazmidpreparálási eljárás útján azt tiszta formában kinyertük a baktériumsejtekből. Az expressziós vektorral tenyésztetben fenntartott melanoma sejteket transzfektáltunk. Mivel a pRNAT-U6.1/Neo vektor expresszál egy zöld fluoreszcens fehérjét (GFP), a sikeresen transzfektált sejtekben a vektor jelenléte és kifejeződése egyértelműen megítélhető volt. A fenntartott tenyészeteken a vektor kifejeződésének igazolása után genecin-rezisztencián alapuló szelekciót végeztünk, aminek következtében a tenyészetben csak azok a sejtek maradhattak életben, amelyek a vektort valóban felvették és expresszálják. A TASK-3-géncsendesített melanoma sejtenyészeten és a megfelelő kontroll tenyészeteken ezután immunitokémia alkalmazásával vizsgáltuk a sejtek morfológiájában bekövetkezett változást, és igazoltuk a TASK-3 csatornafehérje expressziójának gátlását.

Eredményeink szerint a TASK-3 csatornát nem expresszáló melanoma sejtek a kontroll sejtenyészethez képest jellegzetes morfológiai változásokon mentek keresztül, azokban feltűnően csökkent a nyúlványok száma és hossza. Az shRNS vektort expresszáló tenyészetben a sejtek szaporodásának üteme is jelentős csökkenést mutatott, aminek kvantitatív vizsgálata még további kísérleteket igényel. Eredményeink alapján arra következtethetünk, hogy a TASK-3 csatornák funkciója jelentős szerepet játszik a melanoma sejtek életképességében és növekedésében.

MolBiol_3

Egy indukálható magi szignál jellemzése

*Schmidthoffer Ildikó, Bali Judit, Pecérkeova Marianna
Nyugat-magyarországi Egyetem, Biológia BSc szak*

Témavezető: Dr. Szilák László

A syndecanok transzmembrán fehérjék, extracelluláris szegmenseikhez heparán és kondroitin szulfát láncok kapcsolódnak. Négy fehérje alkotja a családot, amelyek termelése szövet és fejlődés specifikus. Azonban a syndecan-4 kivételt képez, mert minden sejtben jelen van, és direkt módon részt vesz a jelátvitelben a protein kináz C alfa aktiválásán keresztül. Ez az aktiválás a Ser179 aminosav foszforilációján keresztül szabályozódik: a foszforilált syndecan-4 nem képes aktiválni.

A sejtekben a fehérjék transzportját a különböző membránnal körülzárt organellek között szignálok határozzák meg. A sejtmag a sejt életét irányító központ, az információk ide futnak be, illetve a válaszok innen indulnak. A sejtmagi fehérje forgalom éppen ezért kitüntetett fontosságú. Kijelenthetjük, hogy a magba csak az a fehérje léphet be, aminek valamilyen szerepe van a magi funkciókban.

Előkísérleteink során, a syndecan-4 endocitózisát tanulmányozva észrevettük, hogy a syndecan-4 a korai endoszómákból egy retrográd transzporttal eljut a mag körüli térbe, és ott feldúsul. Először egyenletesen körbefogja a magot, majd aszimmetrikusan koncentráldódik. Egy órával az endocitózis stimulálása után a citoplazmás domainjén foszforilált syndecan-4 megjelenik a magban és akkumulálódik a magfoltoknak nevezett (nuclear speckles) régiókban.

Ez a folyamat számos kérdést vet föl. Jelen munkánkban a magi szignál (NLS) jellemzésére koncentráltunk, amit molekuláris biológiai módszerekkel igyekeztünk tisztázni. Általában az NLS-t bázikus aminosavak alkotják. A syndecan-4 citoplazmás domainje is tartalmaz bázikus részt. Az előzetes megfigyelések viszont azt mutatták, hogy a foszforilált forma dúsul fel a magban. Ennek az ellentmondásnak a tisztázására zöld fluoreszcens fehérje (GFP) chimerákat hoztunk létre a syndecan-4 citoplazmás szegmensével, amely tartalmazta a foszforilálódó szerint. Pontmutációval kicseréltük a szerint foszfo-rezisztens alaninra, és a foszfo-szerint mimikáló glutaminsavra. A kész konstrukciókat betranszformáltuk MCF-7 emlő adenocarcinóma sejtvonalba és fluoreszcens mikroszkóppal vizsgáltuk a GFP lokalizációját.

Az eredmények azt mutatták, hogy az alaninra mutált fehérjét nem tudtuk detektálni a magban, szemben a glutaminsavas mutánssal, ami a sejtmagban koncentráldott.

Tehát megállapítottuk, hogy a nukleár lokalizációs szignál a foszforilációt követően alakul ki.

Milyen felhasználása lehet ennek a mechanizmusnak? Mivel a heparin láncokhoz kötődő molekulák is bejutnak a sejtbe, ill. a sejtmagba, ezért ez döntő jelentőségű lehet a jövő gyógyszerei tervezésénél, amennyiben ezt a mechanizmust használják. Másrésztől vírusok, baktériumok is beléphetnek ezen az úton. Ebben az esetben viszont a syndecan-4 endocitózisának célzott gátlása lehet a cél.

MolBiol_3

Molekuláris markerek alkalmazásával azonosított levélrozsdarezisztenciagének búzában

Sipos Márk György
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Purnhauser László, Dr. Mainé Dr. Csiszár Jolán

A búza az elsődleges kenyér-gabonánk, valamint több fontos élelmiszer alapjául szolgáló liszt forrása. Ezért is fontos, hogy folyamatosan elegendő nagy mennyiségben és kiváló minőségben lehessen termelni.

Főbb problémát a búzatermesztésnél is a gombabetegségek okozzák, mint például a lisztharmat, fuzárium, sárgarozsda, szárrozsda, vagy a levélrozsda. Az utóbbi évtizedek legjelentősebb hazai és európai rozsdabetegségévé a levélrozsda vált. Ebben a harcban a fungicides védekezés mellett megjelent és elterjedni is látszik a jóval környezetkímélőbb, rezisztenciagének piramidációján alapuló nemesítés. Az eljárás alapját a rezisztenciagének felkutatása és feltérképezése jelenti, mely markerekre alapozott szelekcióval (MAS) történik.

Célunk volt az *Aegilops umbellulata* transzlokációból származó Lr9-es levélrozsdarezisztenciagén pontos feltérképezése és új kapcsolt markerek azonosítása, leírása.

Egy korábbi nemzetközi kísérlet (RING-teszt) eredménye az Lr9-nek a 6B kromoszómán történő lokalizációját tette valószínűvé. Irodalmi adatok alapján az adott kromoszóma karra (6B L) specifikus mikroszatellit markert teszteltünk, illetve más, valószínűsített génspecifikus markereket is beavagattunk a vizsgálatba. A markerek azonosítása két egymástól eltérő (szenzitív ill. rezisztens) közelizogén vonal közti polimorf DNS-sávmintázat keresésén alapult. 1-2 hetes csiranövényekből izolált DNS mintákon PCR-analízist végeztünk. Alkalmaztunk véletlenszerűen amplifikálódó prajmerek (RAPD) alapuló módszert, de használtunk specifikusabb kötődésű (SCAR), valamint kromoszómaspecifikus (mikroszatellit) prajmerek is.

Az eddig vizsgált 90 mikroszatellit, 12 RAPD, valamint 2 SCAR markerből csak eggyel kaptunk pozitív eredményt. A várt térképtávolságtól jelentős eltérést tapasztaltunk, de megállapítottuk az Lr9-es gén és az SCS5550-es SCAR marker kapcsoltságát. Új, kapcsolt markerek keresése és leírása, valamint a működő marker nemesítésben történő alkalmazása folyamatban van.

MolBiol_3

**A matrilin-1 gén transzkripció szabályozásának vizsgálata
kotranszfekciós kísérletekben**

Szénási Tibor

Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Kiss Ibolya, Dr. Boros Imre

A matrilin-1 csak porc szövetben fordul elő, extracelluláris fonalas hálózatot képezve a matrix szerveződésében vesz részt. Az endochondrális csontosodás folyamán a matrilin-1 gén a többi porc fehérje génnél később kapcsol be és csak késői proliferatív chondrocytáiban működik. A gén kifejeződése a növekedési korong proliferatív és prehipertróf zónáira korlátozódik. Korábbi kísérletek alapján a matrilin-1 gén transzkripció szabályozásában amniotákban konzervált disztális (Dpe1 és Dpe2) és proximális promotor elemek (Pe1) és iniciátor elem (Ine) vesz részt, melyek közül a Pe1, Ine és Dpe1 elem porc-specifikus Sox faktorokat köt *in vitro*. Sox9 a chondrogen differenciálódás fő transzkripcós faktora, de a Sox5 és Sox6 gének együttes kiütése is porcdifferenciálódási zavart okoz és megakadályozza a matrilin-1 gén bekapcsolását. A rövid promotor SI és SII silencer elemeihez NFI kötődik, de előfordulnak más általános faktorok kötőhelyei is, melyek működését porcsejtekben szintén leírták.

A Sox fehérjék HMG box doménjük révén specifikus szekvenciát ismernek fel a DNS kis árkában. HMGB1, a kromatin abundáns fehérje, szintén HMG box doménje révén, de nem szekvencia-specifikusan kötődik a DNS-hez. Bár változatos szerepet tölt be a génextpresszió szabályozásában, szerepe porcdifferenciálódásban nem ismert.

Kísérleteinkben a génextpresszió tanulmányozásához RNS-t preparáltunk a chondrogenesis korai stádiumát képviselő, nagy sejtsűrűségű porccá differenciálódó mesenchyma (HDM) kultúrából, illetve a késői proliferatív stádiumot képviselő csirke embrió porcsejt (CEC) kultúrából. Kontrollként a matrilin-1 gént nem expresszáló csirke embrió fibroblaszt (CEF) kultúrát készítettünk. A génextpressziós változásokat QRT-PCR analízissel követve, valószínűsíthető NFI és HMGB1 szerepe a porcdifferenciálódásban. A transzkripció faktorok szerepét expressziós klónok felhasználásával kotranszfekciós kísérletekben igazoltuk olyan plazmidok segítségével, melyekben a luciferáz gén működését a matrilin-1 gén promotere illetve annak mutáns változatai irányították. A transzfekciós adatok statisztikai kiértékelése Student T próbával történt.

Eredményeink azt igazolják, hogy HMGB1 HDM kultúrában jelentősen növelte a promotor aktivitását. Sox9 aktiváló hatásával szemben L-Sox5/Sox6 önmagában gátolta, de Sox9 és HMGB1 jelenlétében szinergista módon növelte a luciferáz aktivitást. Az aktiválás CEF kultúrában volt a legnagyobb. Dpe1, Pe1, Ine Sox-kötőhelyeinek mutációja az aktivitás jelentős csökkenésére vezetett, míg Ine más mutációja növelte az aktivitást, valószínűleg gátlás feloldása révén. Vizsgáltuk még Sox9 és NFI faktorok együttes hatását is.

MolBiol_3

Élelmiszerminták genetikailag módosított szója összetevőinek vizsgálata

Varga Richárd Sándor
Nyíregyházi Főiskola, Biológia BSc szak

Témavezető: Dr. Máthé Endre

Kidolgoztunk egy olyan módszert, melynek segítségével friss és feldolgozott - mind emberi, mind állati fogyasztásra alkalmas - élelmiszerek összetevői meghatározhatóak. A meghatározás alapja, hogy az örökítőanyag, a nukleinsavak stabilitása és szerkezete változatlan marad az élelmiszerek feldolgozása és előállítása során (hőkezelés, vákuum, szárítás, stb.).

Módszerünk segítségével a növényi és az állati összetevők is pontosan meghatározhatóak:

13 féle húst tudunk analizálni a mintákból; a növényi összetevők közül a szója és kukorica tartalomra fektettük a hangsúlyt, különösen azok genetikailag módosított változataira. Az élelmiszerminták összetevőinek meghatározásánál különösen azok növényi komponenseire koncentráltunk.

A kidolgozott módszerünk alkalmas arra, hogy a minták növényi összetevői közül elkülönítsük azokat, amelyek genetikailag módosított szóját vagy kukoricát tartalmaznak.

Neurobiológia I. tagozat

Időpont: Április 9. 09:00

Terem: O épület, 11. terem

A zsűri elnöke: **Dr. Elekes Károly**, tudományos igazgatóhelyettes
MTA Balatoni Limnológiai Kutatóintézet, Kísérletes
Állattani Osztály

tagjai: **Dr. Kiss Tibor**, tudományos tanácsadó
MTA Balatoni Limnológiai Kutatóintézet

Dr. Zachar Gergely, tudományos segédmunkatárs
Semmelweis Egyetem, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani
Intézet

09:00	Aliczki Manó	SZIE ÁOTK	Az endokannabinoid rendszer szerepe a stresszreaktivitásban
09:20	Bohár Zsuzsanna	SZTE TTIK	L-kinurenin hatásai a migrén nitroglicerines állatmodelljében
09:40	Kecskés Miklós , Pelsőczy Péter	SZTE TTIK	A TRPV-1 receptor fiziológiája és farmakológiája
10:00	Pelsőczy Péter, Kecskés Miklós	SZTE TTIK	A TRPA1 ioncsatorna <i>in vivo</i> funkcionális vizsgálata és koexpressziójának bizonyítása a TRPV1 ioncsatornával
10:20	Neubrandt Máté	ELTE TTK	Glutamát transzporterek az idegi elköteleződés során - EAAT4 glutamát transzporter vizsgálata
10:40	Szünet		
10:50	Popovics Petra	PTE TTK	A hypophyseális inhibin-aktivin-follisztatin rendszer szabályozásának vizsgálata patkányban
11:10	Szőke Balázs	SZIE ÁOTK	Részleges táplálékmegevonás hatása GFAP-immunreaktív gliális elemekre a patkány laterális septumában
11:30	Vőfély Gergő	ELTE TTK	Retinsav a posztnatális központi idegrendszerben: asztroglia sejtek retinsav termelése <i>in vitro</i> és <i>in vivo</i>

NeuroBiol_1

Az endokannabinoid rendszer szerepe a stresszreaktivitásban

Aliczki Manó

Szent István Egyetem, Alkalmazott zoológus szak

Témavezetők: Dr. Haller József, Dr. Kabai Péter

Irodalmi adatok bizonyítják, hogy az endokannabinoid rendszer befolyásolja a szorongásos állapotok kialakulását. Az eredmények azonban gyakran ellentmondásosak, és úgy tűnik, hogy a kannabinoid rendszerre ható farmakológiai ágensek hatása erősen függ a kísérleti körülményektől. Hipotézisünk szerint az endokannabinoid rendszer aktivitása elsősorban a stresszre adott magatartási reaktivitást modulálja, azaz a külső körülmények megváltozása esetén a kannabinoidok magatartási hatásai módosulhatnak. Kísérleteinkben két megközelítést alkalmazva mind a farmakológiai megnövelt endokannabinoid aktivitás, mind a kannabinoid CB1 receptor génjének hiánya következtében kialakuló csökkent kannabinoid transzmisszió hatásait vizsgáltuk.

Az endokannabinoid szint növelésének hatását patkányokban tanulmányoztuk, melyeket az endokannabinoid anandamid bontását gátló URB597 vegyülettel kezeltünk, majd az állatok szorongását megemelt keresztpalló tesztben mértük. A külső körülmények hatásának tisztázására a teszteket erős fényben, illetve (az állatok számára kevésbé stresszes) sötétben is elvégeztük, valamint vizsgáltuk a kísérleti körülményekhez való előzetes szoktatás hatását is. Eredményeink szerint a patkányok szorongása előzetes szoktatás után URB597 hatására sötétben szignifikánsan nőtt. Abban az esetben azonban, ha az állatokat a kísérleti körülményekhez nem szoktattuk, az URB597 erős megvilágításban jelentősen csökkentette az állatok szorongását. Az összes adatot együtt vizsgáló metaanalízis rávilágított arra, hogy míg a kontroll állatok erősen reagáltak a kísérleti körülményekre, a fokozott endokannabinoid aktivitású állatok szorongása jóval enyhébben változott a körülmények függvényében.

A csökkent endokannabinoid funkció magatartási reaktivitásra kifejtett hatásait CB1 kannabinoid receptor knock-out (CB1 KO) és vad típusú egereken vizsgáltuk. Egy ún. habituációs teszt során három egymást követő napon elvégzett nyílt-tér tesztben vizsgáltuk a szorongás változását, figyelembe véve a különböző kísérleti körülményeket (erős megvilágítás vagy sötét). Eredményeink szerint a CB1 receptor hiánya ugyan önmagában nem befolyásolta a nyílt-tér tesztben mutatott szorongást és lokomóciót, de a CB1 KO állatok erőteljesebben reagáltak a környezeti hatásokra (fényerősségre), illetve markánsabb viselkedési változást mutattak a napok során, mint a vad típusú egerek.

Ezek az eredmények arra utalnak, hogy az endokannabinoid aktivitás növekedése vagy csökkenése nem önmagában a szorongást, hanem a stresszre való magatartási reaktivitást befolyásolja. Eredményeink nagyban hozzájárulhatnak a kannabinoid rendszer magatartási hatásainak megértéséhez, és a szakirodalomban meglévő ellentmondásos adatok újraértelmezéséhez.

NeuroBiol_1

L-kinurenin hatásai a migrén nitroglicerines állatmodelljében

Bohár Zsuzsanna

Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Párdutz Árpád, Prof. Dr. Toldi József

A migrén pontos patomechanizmusa az intenzív kutatások ellenére még ma sem teljesen ismert, de a trigeminovascularis rendszer aktiválódása alapvetőnek tűnik a roham során. A migrénes fejfájás egyik humán modellje a nitrogén monoxid (NO) donor nitroglicerinnel (NTG) szisztémás adása, ami migrénesekben több órás latenciával egy típusos aura nélküli rohamot okoz, mely azonban nem alakul ki egészséges önkénteseknél. A tünetek hasonlósága miatt az NTG adásakor is feltételezhető a trigeminalis rendszer aktivációja.

Állatkísérletek alapján a NTG képes volt a másodlagos érző trigeminalis neuronok aktiválására és megemelte a neuronális nitrogén monoxid szintáz (nNOS) szintjét patkány caudalis trigeminalis magjában (TNC). A NO, feltehetőleg az elsődleges trigeminalis afferensekre hatva, aktiválni képes a másodlagos trigeminalis érző neuronokat, erre utalhat az, hogy lecsökkenti a fájdalomérzésben és a fejfájásban is fontos calcitonin gén-relációs peptid (CGRP) szintjét a primer afferensekben a TNC területén. A NO indukált nNOS emelkedés egy öngerősítő folyamatra utalhat, mely a migrénben is ismert centrális szenzitizáció kialakulásához vezethet.

A kinureninek a triptofán metabolikus útvonal közti termékei. Az L-kinurenin (L-KYN), jól diffundál a vér-agy gáton keresztül, probeneciddel együtt adva a központi idegrendszerben átalakulva növeli a neuroprotektív, NMDA receptor antagonistá kinurensav (KYNA) szintjét. A KYNA más idegrendszeri folyamatok mellett a fájdalomérzés modulációjában is fontos szerepet játszhat.

Kísérleteinkben arra voltunk kíváncsiak, hogy az L-KYN hatással van-e a NTG indukált CGRP, illetve nNOS szint változásra patkány TNC-ben. Az állatok L-KYN (300 mg tskg⁻¹) és probenecid (200 mg tskg⁻¹) vagy placebo előkezelés után 1 órával kaptak NTG-t (s.c. 10 mg tskg⁻¹) vagy az NTG oldószerét. Négy órával ezután az állatokat perfundáltuk a TNC-t eltávolítottuk, immunhisztokémiai festéssel meghatároztuk a CGRP pozitív rostok által fedett terület nagyságát és az nNOS pozitív sejtek számát. Western-blot segítségével megmértük az nNOS protein mennyiségét is. Eredményeink alapján az L-KYN előkezelés probeneciddel kombinálva kivédi a NTG által okozott CGRP immunreaktivitás csökkenést a TNC-ben, azaz megakadályozza a NO okozta CGRP felszabadulást az elsődleges trigeminalis érző neuronokból. Emellett ugyanítt képes kivédeni az NTG indukált nNOS növekedést is. Mindkét hatás feltételezhetően az NMDA receptorokon keresztül érvényesül, amelyek megtalálhatók mind az elsődleges, mind a másodlagos érző neuronokon.

Eredményeink hozzájárulhatnak a trigeminalis nociceptív rendszer aktivációjának és szenzitizációjának pontosabb megértéséhez, illetve új támadáspontú, a fájdalomérzést és a migrént befolyásoló szerek megismeréséhez.

NeuroBiol_1

A TRPV-1 receptor fiziológiája és farmakológiája

Kecskés Miklós, Pelsőczy Péter
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Vizler Csaba, Dr. Varga E. Csaba

A TRPV-1 receptor (vanilloid receptor, kapszaicin receptor) egy nem szelektív, feszültség független kation csatorna, a TRP (Transient Receptor Potential) receptor család egyik tagja. A vanilloid receptor legismertebb agonistája a kapszaicin, a paprika csípősséget adó toxin, amit növényevő emlősök elleni védekezésül termel a növény.

A vanilloid receptor fiziológias szerepe a gyulladásos fájdalmak érzékelésében van. A receptor endogén aktivátorai gyulladásos lipidszármazékok, továbbá olyan mediátorok, mint pl. a bradikynin és a substance-P, amelyek közvetve aktiválják a receptort. Növeli a csatorna permeabilitását a mérsékelt hőmérsékletemelkedés, illetve a pH csökkenése, vagyis az acidózis is. Az endogén aktivátorokon kívül azonban még számos exogén agonista is ismert. Ilyen a resiniferatoxin, ami egy Afrikában honos kutyatejféle nedvében található agonista, amely potensebb, mint a kapszaicin. A TRPV-1 receptor az elmúlt 40 évben igen kutatott téma lett itthon és külföldön egyaránt. Ennek fő oka az, hogy a receptorra irányuló gátlószerek olyan új fájdalom és/vagy gyulladás csökkentő gyógyszerek lehetnének, amelyek nem ciclooxygenáz ill. opioid-receptor függő útvonalon fejtik ki hatásukat.

Kutatásaink fő célja a receptor működésének megismerése mellett az volt, hogy olyan antagonistá vegyületeket találjunk, amik képesek blokkolni a csatornát, így fájdalomcsillapító hatásúak lehetnek. A kutatások során célul tűztük ki új potenciális gyógyszerhatóanyagok előállítását.

Ennek során három fő molekulacsoport vizsgálatát végeztük el. Az első csoportba mikroszkopikus gombákból fermentálással nyerhető terpén természetű hatóanyagok tartoztak, amelyeket eredetileg kalmodulin gátlószerként kezdtünk vizsgálni. A második nagy csoportot egy molekulakönyvtárból kikerült vezérmolekula, illetve ennek a molekulának célzott kémiai módosításokkal nyert új analógjai alkották. A vezérmolekulára véletlenszerűen, nagy áteresztőképességű szűrővizsgálataink (high throughput screening) során bukkantunk. Ezek mellett egy távol-keleti gyógyászatban fájdalomcsillapítóként használt, nálunk dísznövényként ismert fa terméséből tisztított vegyületeket is vizsgáltunk.

A vegyületek antagonistá hatását első lépésben *in vitro*, egy általunk létrehozott, TRPV-1-et kifejező sejtvonalon, második lépésben *in vivo* egérmodelleken vizsgáltuk. Vizsgálatainkban mindhárom molekulacsoportban találtunk ígéretes hatóanyagokat, amelyek részletes vizsgálata folyamatban van.

NeuroBiol_1

A TRPA1 ioncsatorna *in vivo* funkcionális vizsgálata és koexpressziójának bizonyítása a TRPV1 ioncsatornával

Pelsőczy Péter, Kecskés Miklós
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Vizler Csaba, Dr. Varga E. Csaba

A szenzoros neuronokon kifejeződő polimodális nociceptorok, amin a TRPV1 is kifejeződik, a szélsőséges hőmérsékletekre, káros mechanikai ingerekre és irritáló gyulladaskeltő kémiai anyagokra érzékenyek. A pszeudo-unipoláris idegsejtek rostjain a TRPV1 kation-csatornát természetes gyulladaskeltő anyagok, így a szövetsérüléskor is felszabaduló endovanilloid ligandok nyitják meg és az idegsejtbe Ca^{2+} áramlik, amely fájdalom jelet indít el a periferiáról a központi idegrendszer felé. A csatorna gyulladáshoz mediátorokra, savas pH-ra és hőre ($<42^{\circ}C$) is érzékeny.

Az új fájdalomcsillapítási eljárásban, a „molekularis idegsebészet”-ben a leghatékonyabb exogén TRPV1 agonista, a resiniferatoxin (RTX) csatornanyitó hatását használjuk ki, amely a beáramló nagymennyiségű Ca^{2+} citotoxicitása révén fejt hatását. TRPV1 agonisták funkcionális kimutatására beállítottuk a $^{45}Ca^{2+}$ izotóp felvételén alapuló tesztet, amely a TRPV1-et mesterségesen kifejező sejtek specifikus, ligand-kiváltotta kation felvételen alapul. Az *in vivo* tesztekhez RTX kezeléssel „kémiai knockout” állapotokat állítottunk elő, amelyekből így hiányoznak a TRPV1+ neuronok. A kezelés hatékonyságát eye wipe teszttel ellenőriztük. Ezt követően hot- és cold plate, valamint tail-flick teszteket végeztünk el a hőérzékelésük vizsgálatára, továbbá mértük mennyi allil-izotiocianátot (AITC) tartalmazó ivóvizet hajlandóak az állatok fogyasztani. A RTX kezelés mellett AITC kezelést is végeztünk, majd ezen az AITC-knockout modellen is elvégeztük a nociceptor teszteket. A TRPV1 specifikus kimutatására és az expresszió ellenőrzéséhez monoklonális ellenanyagot állítottunk elő. Érződűcből extrahált fehérjék Western blot analízisével, valamint immunhisztokémiával is igazolható volt a TRPV1 és TRPA1 koexpressziója és a két nociceptor együttes „kémiai knockout”-ja.

Megállapítottuk továbbá, hogy az AITC nem képes közvetlenül hatni a TRPV1-en. A RTX kezelt állatok érzéketlenné váltak capsaicinre, AITC-ra.

Másik, előre nem várt megfigyelés viszont, hogy a RTX kezelt állatok érzékenyebbé váltak a hideggel szemben. Igaz ez megerősíti azt a feltételezésünket, hogy az AITC receptora, a TRPA1 együtt fejeződik ki a TRPV1-el, mindkettő jelen van a gyulladáshoz fájdalomérzékelő C-rostokban. Ezt támasztja alá az új megfigyelésünk is, hogy az AITC knockout egerek megkülönböztethetetlenek a RTX-al kezelt egerektől. A TRPA1 és TRPV1 hiányos kettős knockout állatokban tapasztalt hidegérzékenység növekedés arra utalhat, hogy a hidegreceptorok kifejeződése, mint például a TRPM8, nem fed át a TRPA1-el, de amint azt korábban mások megfigyelték, a TRPV1-el sem.

NeuroBiol_1

**Glutamát transzporterek az idegi elköteleződés során
EAAT4 glutamát transzporter vizsgálata**

Neubrandt Máté
Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Jelítai Márta

A glutaminsav a központi idegrendszer legjelentősebb neurotranszmittere, extracelluláris szintje szigorú szabályozás alatt áll. Ezt a szabályozást a plazmamembrán glutamát transzporterek végzik, amelyeknek öt tagja ismert (GLAST, GLT1, EAAC1, EAAT4, EAAT5). A transzporterek kifejeződése sejtípusonként és agyterületenként változó.

Laboratóriumunkban az idegi sejt differenciáció alapvető folyamatait tanulmányozzuk elsősorban *in vitro* modellrendszereken (NE-4C, P19 sejt vonal). Eredményeink szerint a GLAST és EAAT4 transzporter mRNS-e fejeződik ki legkorábban, kimutathatóak már a neurális őssejteken is. A GLAST korai expressziója az irodalomban jól ismert, az EAAT4 ilyen korai, embrionális fejlődés alatti jelenlétét azonban eddig nem mutatták ki. Az EAAT4 kifejtett idegrendszerben kisagyi Purkinje sejtekre, GABAerg interneuronokra, valamint asztrogliá sejtek bizonyos csoportjaira és a retinára jellemző.

Munkám során az EAAT4 kifejeződését vizsgáltam az idegi sejtfejlődés során, *in vivo* és *in vitro*. A fehérje jelenlétét Western blotot módszerrel bizonyítottam. *In vivo* előfordulását embrionális és perinatális egér ill. patkány metszeteken végeztem immunhisztokémiai festésekkel analizáltam. Az EAAT4 pozitív sejtek azonosítását különböző sejtípus specifikus markerekkel végeztem kettős festésekkel végeztem. A transzporter működését triciált glutamát felvétel méréssel igazoltam.

Az EAAT4 fehérje kifejeződését Western blot analízis igazolta mind NE-4C és P19 idegi őssejteken, mind egér embrionális előagyi mintában. Továbbá, a GLAST működésének gátlása mellett EAAT4 specifikus glutamát felvétel mérhető az idegi őssejteken. *In vivo* embrionális fejlődés során kimutatható a transzporter az agy neurogén régióiban. Ezeken a területeken az EAAT4 specifikus festődés kirajzolja a neurális őssejtként funkcionáló radiális gliasejteket. Újszülött állatban pedig az asztrogliá progenitor sejtek bizonyos csoportjain detektálható az EAAT4 transzporter.

Munkám során tehát igazoltuk az EAAT4 glutamát transzporter jelenlétét őse- és progenitor sejteken, szerepe azonban még tisztázásra vár. A glutamát felvétel mérésekből kiderült, hogy az EAAT4 transzporter kapacitását meghaladja a GLAST transzporter által közvetített glutaminsav felvétel. Ugyanakkor tudjuk, hogy az idegi progenitorsejtekre magas intracelluláris kloridion koncentráció jellemző és az EAAT4 transzporter működését jelentős kloridion konduktancia jellemzi. Mindezek alapján feltételezhető, hogy a neurális őse- és progenitorsejteken az EAAT4 transzporternek inkább a kloridion háztartás szabályozásában lehet szerepe, mint az extracelluláris glutamát koncentráció szabályozásában.

NeuroBiol_1

**A hypophyseális inhibin-aktivin-follisztatin rendszer
szabályozásának vizsgálata patkányban**

Popovics Petra

Pécsi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Kovács Magdolna, Dr. Molnár László

A gonadotroph hormonok szekrécióját komplex rendszer szabályozza. Jól ismert, hogy a hypothalamikus GnRH stimulálja mind az LH mind az FSH szekréciót, azonban az FSH válasz sokkal mérsékeltebb, mint az LH. Az inhibint és aktivint először gonadális peptidként azonosították, azonban a későbbi vizsgálatok hypophysisben is jelentős génexpressziót mutattak ki. Az inhibin α és βA vagy βB alegységből felépülő fehérje, az aktivin 2 β láncból álló homodimer (BB, AA) vagy heterodimer (AB). A hypophyseális aktivinról és inhibinről feltételezik, hogy autokrin/parakrin mediátorként befolyásolják az FSH termelődését. A follisztatin, amelynek fő termelődési helye a hypophysis, az aktivin megkötésével csökkenti a biológiailag aktív hormon mennyiségét. A 3 hormon így egymással kölcsönhatásban levő rendszert (I-A-F rendszer) képez, melynek szabályozása kevésbé ismert. Kísérleteink tervezésénél fő kérdésünk az volt, hogy van-e szerepe a GnRH-LH-FSH rendszer elemeinek a hypophyseális I-A-F génexpresszió szabályozásában.

Kísérleteinkben tanulmányoztuk az ovariectómiát (OVX) követő endogén GnRH/gonadotropin túltermelés és GnRH gátlás (GnRH antagonistá alkalmazásával) hatását az I-A-F génexpresszióra, relatív RT-PCR módszerrel. Az LH és FSH hypophyseális I-A-F génexpresszióra kifejtett szabályozásának vizsgálatához rekombináns hormonkészítményeket használtunk.

OVX után 6 héttel az inhibin α és βB alegység génexpressziója 75%-kal és 115%-kal emelkedett, a βA alegység mRNA szintje nem változott. A βA lánc mRNS szintje jelentősen alacsonyabb volt, mint a másik két alegységé. GnRH antagonistá hatására az α alegység expressziója további 50%-kal nőtt, a βB alegységé nem változott. Az FSH az α mRNS szintet 47%-al, a βB szintet 29%-al csökkentette. Az LH viszont stimuláló hatást gyakorolt mindkét alegységre. Az α alegység expressziója 90%-kal emelkedett, és a βB mRNS szint is 37%-kal nőtt. A follisztatin mRNS expressziós szintje az OVX után 57%-kal növekedett. Az emelkedett follisztatin expresszió GnRH antagonistá hatására a normál kontroll szintre esett vissza. Az exogén LH és FSH alkalmazását követően csak az LH okozott szignifikáns, 30% csökkenést a follisztatin génexpresszióban.

Eredményeinkből arra következtethetünk, hogy a hypophyseális I-A-F génexpresszió szabályozásában szerepet játszik a GnRH-LH/FSH rendszer. Az inhibin-specifikus α alegység fő stimulálója az LH, a GnRH és FSH negatív szabályozó elemek. A βB alegység mérsékeltbben, de követi az α lánc LH-ra és FSH-ra adott válaszát. A βA lánc mRNS expressziója jelentősen kisebb, mint a βB láncé, így főként az inhibin/aktivin B forma fordul elő a hypophysisben. A follisztatin termelődését a GnRH közvetlenül serkenti, az LH viszont gátló hatást fejt ki.

NeuroBiol_1

**Részleges táplálékmgvonás hatása GFAP-immunreaktív gliális
elemekre a patkány lateralis septumában**

Szöke Balázs

Szent István Egyetem, Alkalmazott zoológus szak

Témavezető: Dr. Halasy Katalin

A patkány lateralis septumának neuronális elemei érzékenyen reagálnak a részleges vagy teljes táplálékmgvonásra. Még nem ismeretes, hogy ezek a változások együtt járnak-e a szinapszisok plasztikus átrendeződésével. Az ilyen változások egyik megbízható indikátora az asztroglia sejtek kiterjedésének megváltozása, mivel ezen sejtek nyúlványai fontos szerepet játszanak a szinapszisok szigetelésében. Az asztroglia immuncitokémiai is jól detektálható markere a gliális fibrilláris savas protein (GFAP), amely a glia filamentumok specifikus alkotórésze. Munkánk során célul tűztük ki, hogy megvizsgáljuk hím, intakt és ovariectomizált nőstény patkányok lateralis septumában a GFAP-immunpozitív gliális elemek részleges táplálékmgvonás által indukált esetleges denzitásbeli változásait.

Kísérleti elrendezésünk során hím Wistar patkányokat két csoportra osztottuk: 3 állat szolgált kontrollként, további 3 állat 40 %-os táplálék mgvonásban részesült egy héten keresztül. A nőstények esetén négy csoportot hoztunk létre: intakt nem éhezők (n=4), intakt éhezők (n=4), ovariectomizált nem éhezők (n=4), ovariectomizált éhezők (n=4). Az állatok agyát 4 % paraformaldehides perfúziós fixálást követően eltávolítottuk, majd 60 mikrométeres vibratome sorozatmetszeteket készítettünk a lateralis septum területéről. A metszeteken pre-embedding immuncitokémiai módszerrel mutattuk ki a GFAP jelenlétét. A fénymikroszkópos sorozat metszetekről készült digitális fotókat számítógépes denzitometriás módszerrel (Scion Image) értékeltük ki.

Eredményeink szerint kontroll állatokban a lateralis septum rostrocaudalis tengelye mentén nagyjából egyenletes immunreaktivitási szintet detektáltunk. A részleges táplálékmgvonás hatására jelentős denzitásbeli növekedés, azaz a GFAP-immunreaktív elemek mennyiségének megnövekedése volt tapasztalható a septum területén mind a hímek, mind az intakt és ovariectomizált nőstények esetén is. Ez a jelenség csak a lateralis septum területén volt észlelhető, mivel hímek esetén referencia-területként megvizsgáltuk a frontális kéreg területét is, de ott éhezés indukálta változások a GFAP denzitásában nem voltak tapasztalhatók. Megállapítottuk továbbá, hogy a GFAP immunreaktivitás denzitása nőstényekben ezen az agyterületen nem függ a gonadális hormonok mennyiségétől.

Eredményeink szerint a hypothalamussal kölcsönös idegi kapcsolatban álló lateralis septum is neurokémiai változásokkal reagál a táplálékmgvonásra. Ezek a változások egyaránt érintik a neuronális és gliális elemeket. Az asztrogljáról köztudott, hogy nyúlványrendszerét változtatni képes. Feltételezzük, hogy a denzitásbeli növekedés mögött is a nyúlványrendszer kiterjedése, bizonyos szinapszisok időleges lezárása, leszigetelése állhat.

NeuroBiol_1

**Retinsav a posztnatális központi idegrendszerben: asztroglia sejtek
retinsav termelése *in vitro* és *in vivo***

Vöfely Gergő

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológia szak

Témavezető: Dr. Környei Zsuzsanna

Az all-transz retinsav (RA) az A-vitamin (ROL) biológiailag aktív származéka. Az agyban e morfogén molekula időben és térben meghatározott mintázat szerint termelődik, s kiemelkedő szerepe van a központi idegrendszer normális fejlődésének irányításában. *In vitro*, az asztroglia sejtek és őssejtek (embriónális-, idegi őssejtek) ko-kultúráiban az asztroglia sejtek által termelt RA idegi irányú differenciálódást indukál.

Céлом a posztnatális egér és patkány agyszövet RA tartalmú régióinak és RA termelő sejt populációinak azonosítása, valamint az asztroglia sejtek retinoid raktározó és metabolizáló képességének vizsgálata volt.

In vivo, RA-riporter transzgenikus egértörzsből (RARE-LacZ) a retinsav által indukált béta-galaktoszidáz enzim lokalizációja kirajzolja a RA-t tartalmazó területeket és sejteket. A felnőtt agyszövetben belül, endogén RA főként két régióban, a felnőttkori idegsejtképzés helyein, a szubventrikuláris zónában (SVZ) és a hippocampus szubgranuláris zónájában (SGZ) koncentrálódik. E neurogén zónákban az idegi őssejtek mikrokozmoszának legfontosabb komponensei az asztroglia sejtek, melyek RA-termelésük révén is részt vehetnek a felnőttkori idegsejtképzés szabályozásában. RA-szenzitív bioassay (F9 RARE-LacZ) segítségével igazoltam, hogy *in vitro*, a legkülönbözőbb agyterületekből származó asztroglia sejtek is termelnek RA-t. Az *in vivo* csak meghatározott régiókban jelentkező RA termeléssel való ellentmondást az okozhatja, hogy a szubsztrát (ROL), *in vivo*, nem minden agyterületen áll rendelkezésre. Ennek vizsgálatára elemeztem a RA termelést normál és A-vitamin mentes környezetben hosszú ideig fenntartott asztroglia sejtek tenyészetében.

A mérések azt igazolták, hogy az asztroglia sejtek jelentős retinoid-raktározó képességgel rendelkeznek. A neurogén zónák mellett, RA-tartalmú régióknak bizonyultak az oldalkamrai érfonatok és az agyhártya is, melyek RA termelését, *ex vivo*, RA-szenzitív bioassay segítségével is igazoltam. A RA termelés kulcsenzimeinek, a retinaldehid-dehidrogenázoknak (RALDH) immuncitokémiai kimutatásával lokalizálhatók a RA termelésre képes sejtek. Posztnatális patkányok agyhártyája, agykamrai érfonatai és erei erős RALDH 2 immuncitokémiai jelölődést mutattak.

A RA termelés lehetőségének és a magas RA-tartalomnak együttes jelenléte igazolja, hogy az érfonatok és az agyhártya jelentős RA-forrás a környező agyszöveti sejtek számára. Az ependyma sejtek, a hippocampusra ráfekvő agyhártya és a SGZ területére futó erek RA termelése fontos szerepet játszhat az őssejtek fenntartásában és differenciálásában.

Neurobiológia II. tagozat

Időpont: Április 9. 15:00

Terem: N épület, 110. terem

A zsűri elnöke: **Dr. Vehovszky Ágnes**, tudományos főmunkatárs
MTA Balatoni Limnológiai Kutatóintézet

tagjai: **Dr. Hernádi László**, tudományos főmunkatárs
MTA Balatoni Limnológiai Kutatóintézet

Dr. Világi Ildikó, egyetemi docens
Eötvös Loránd Tudományegyetem, Élettani és
Neurobiológiai Tanszék

15:00	Bercsényi Kinga	ELTE TTK	A cadherin-13 szerepének vizsgálata az agykéreg embrionális fejlődésében
15:20	Garab Dénes	SZTE TTIK	Az Alzheimer kór patomechanizmusában szerepet játszó gének expressziójának vizsgálata stressz hatására
15:40	Kovács Anita	PTE TTK	Monoaminok és metabolitjaik voltametriás mérése karbonszálas mikro és karbonpasztás screen-printed elektródon
16:00	Mészáros Gabriella	SZIE ÁOTK	Glutamáterg neuronális elemek azonosítása vesiculáris glutamát transzporterek immuncytokémiai kimutatásával a patkány laterális septumában
16:20	Plattner Viktor	SZIE ÁOTK	Különböző eredetű óriás serkentő terminálisok eloszlása és konvergenciája patkány szomatoszenzoros thalamusában
16:40	Szünet		
16:50	Pődör Borbála	SZTE TTIK	Kinurenin moduláló hatása a patkány Gasser-dúc CGRP és TRPV1 formalin-indukált expresszióváltozására
17:10	Varga Edina	SZTE TTIK	Memória deficitet okozó amyloid-béta(1-42) és egy potenciális gyógyszerjelölt pentapeptid hatásának vizsgálata patkánymodellen

NeuroBiol_2

A cadherin-13 szerepének vizsgálata az agykéreg embrionális fejlődésében

Bercsényi Kinga

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Lele Zsolt

A cadherin-13 a cadherin szupercsalád egyik önálló, alcsaládba be nem sorolható tagja, mivel nem rendelkezik sem transzmembrán, sem pedig intracelluláris régióval, és egy GPI horgony rögzíti a sejtmembrán külső oldalához. Korábbi kutatások kimutatták, hogy fontos szerepe van az érendszemben zajló sejtosztódás és migráció LDL függő szabályozásában, azonban az idegrendszerben betöltött szerepét ezidáig csak *in vitro* vizsgálták.

Munkám során *in vivo* vizsgálatokkal szeretnék fényt deríteni a cadherin-13 központi idegrendszeri expressziójára és szerepére a neocortex fejlődésében.

Eredményeim szerint a cadherin-13 expressziója dinamikusan változik az embrionális fejlődés során. 13 napos embrionális korban még szelektíven csak a marginális zónában és a kortikális lemezben vannak cdh-13 mRNS-t detektálható mennyiségben tartalmazó sejtek, míg az újszülött és a felnőtt korú egér agyában már több, cdh-13-at nagy mennyiségben termelő régió van, például a hippokampusz, a bazális ganglionok és az agykéreg.

A cadherin-13 szerepét az agykéreg embrionális fejlődésében az EGFP és a cdh-13 az egyik agyfélteke kortikális ventrikuláris zónájában történő együttes túltermelésével vizsgáltam. 14,5 napos vad típusú egérembrió telencephalonjába *in utero* elektroporációval juttattam be a géneket tartalmazó konstrukciókat. Csak az egfp-t tartalmazó vektorral történő szomatikus géntranszfer esetén a jelölt sejtek 18,5 napos embrionális korban egy elkülönülő réteget alkotnak, és P10-es korra felveszik a II-III. réteget alkotó piramis sejtekre jellemző lokalizációt és morfológiát. Egfp-t és cdh-13-at tartalmazó vektorokkal történő együttes elektroporáció esetén az ektopikus cdh-13 expressziót mutató sejtek a kontrollal ellentétben 18,5 napos embrionális korban még nem alkotnak egy elkülönülő réteget, valamint több sejt található az intermedier és a szubventrikuláris zóna (SVZ) határán, mint a kortikális lemezben.

Ezen felül bizonyos sejtrészletek bejutnak a marginális zónába is, és ezek a partikulumok, valamint a belőlük eredő radiális nyúlványok tartalmazzák a glia sejtekre jellemző intermedier filamentum fehérjét, a GFAP-t. Az SVZ-ben tartózkodó sejtek MAP2b-re specifikus antitesttel végzett immunhisztokémiai vizsgálatának pozitív eredménye arra utal, ezek a sejtek differenciálódott neuronok. A cadherin-13 ektopikus expressziója drámai hatással bír a kérgi piramis sejtek vándorlására és differenciációjára is.

Reményeink szerint a cdh-13 idegrendszeri hatásának pontos leírásával, és a hatás molekuláris mechanizmusának feltárásával közelebb juthatunk ahhoz, hogy a neuronális hálózat kialakulásának szabályozását megértsük.

NeuroBiol_2

Az Alzheimer-kór patomechanizmusában szerepet játszó gének expressziójának vizsgálata stressz hatására

Garab Dénes
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Pákáski Magdolna, Dr. Boros Imre Miklós

Az Alzheimer-kór (AK) jellemző klinikai tünetei az egyén szellemi, testi leépülése, mely gyakran depresszióval társul. A kór ismert rizikótényezői közé tartozik a szervezetet érő különböző stresszhatás. Szövettanilag három fő elváltozás figyelhető meg az agyban: a szenilis plak, melynek fő alkotórésze az amyloid béta peptid, az amyloid-prekurzor-protein (APP) kóros hasítási terméke; a főleg béta-aktint tartalmazó Hirano-test; és a tau-fehérje kóros foszforilációja révén kialakuló neurofibrillaris fonadék. Vizsgálataink elsődleges célja volt feltárni, hogy miként befolyásolja a stressz az APP és a beta-aktin gén kifejeződését. Mivel a stressz válasz hormonális szabályozásában a vasopressin (VP) fontos szerepet játszik, további kísérleteink a VP hiányos állapot és a stressz indukált génextpressziós változások vizsgálatára irányultak.

A kísérleteinkben Wistar és Brattleboro patkánytörzseket, ez utóbbinál normál VP termelésű, ill. VP hiányos állatokat használtunk. A Wistar törzsnél 3 napos akut stresszt és 1, 2 ill. 3 hetes krónikus stresszt, a Brattleboro patkányoknál 5 napos akut stresszt és 3 hetes krónikus stresszt alkalmaztunk. A kezelés végén az állatokat altattuk, transzkardiálisan perfundáltuk, majd a cortex és hippocampus területéről mintát vettünk totál RNS izolálás céljából. Eztután Real-time PCR technikával hasonlítottuk össze a vizsgált gének relatív mennyiségét a kezeletlen kontroll állatokhoz hasonlítva.

A Wistar törzs esetében az aktin mRNS mennyiségei növekedtek stresszelés hatására a cortex, és a hippocampus területén. A 3 napig, ill. 3 hétig stresszelt csoportokban kiugróan magas volt az aktin gén transzkripciója. Krónikus (3 hetes) stresszt követően magasabb aktin mRNS szinteket mértünk, tehát időfüggés figyelhető meg az aktin stresszválaszban. A Brattleboro patkányok esetében hasonló változásokat sem az akut, sem a krónikus stressz nem indukált az aktin mRNS szintekben.

Az APP mRNS szinteket vizsgálva szintén nem tapasztaltunk változást a Wistar patkányoknál. A Brattleboro patkányok esetében a stressz APP mRNS szint csökkenést eredményezett, mely a hippocampus területén kifejezettebb volt. A VP hiányos és a normál VP termelésű állatok APP gén transzkripciója csak krónikus stressz esetén mutatott különbséget.

Eredményeink szerint nem valószínű, hogy a stressz az APP expresszió modulálásán keresztül szerepet játszik az AK kialakulásában. Kísérleteink arra utalnak, hogy a béta-aktin gén transzkripció szabályozása viszont stresszérzékeny, s így szerepe lehet az AK kialakulásában.

NeuroBiol_2

Monoaminok és metabolitjaik voltammetriás mérése karbonszálás mikro és karbonpasztás screen-printed elektródon

Kovács Anita

Pécsi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Hernádi István, Dr. Nagy Géza

Az élettani jelenségekben fontos monoaminok és metabolitjaik, elektroaktív anyagok koncentráció mérésére a voltammetria széles körben alkalmazott, mivel lokális-pillanatnyi koncentráció mérésére alkalmas elektrokémia módszer. Biológiai rendszerekben *in vivo* méréseket először Ralph Adams és kutatócsoportja kezdte az 1970-es években.

Céлом volt mérőrendszer és módszer fejlesztése *in vitro* és *in vivo* körülmények közötti mérésekhez. Vizsgálataimhoz modellszervezetként földigilisztákat (*Eisenia* sp.) és Wistar törzsű laboratóriumi patkányokat használtam. Modellszervezetekben szerotonin és dopamin neurotranszmitterek koncentrációjának elektrokémiai nyomonkövetésére saját készítésű és kereskedelmi forgalomból beszerezhető, különböző típusú elektródokat használtam. Az elektródok és a mérésekhez alkalmas mérőcella kialakításán kívül, részt veszek a tanszéken folyó új biopotenciosztát fejlesztési munkában, annak működésének vizsgálatában.

Elektrokémiai mérőmódszer fejlesztést kétféle típusú screen-printed technikával készült elektródon, dopamin mérésén végeztem. Az alkalmazott grafitpasztás illetve szénnanocsöves elektródok viselkedést vizsgálva megállapítottam, hogy a szénnanocsöves elektródok nagyobb érzékenységgel mérik az elektroaktív anyagokat, így ezek kisebb alsó méréshatárt biztosítanak.

Saját készítésű elektróddal végeztem méréseket *Eisenia fetida* modellszervezetben. Mivel az aszkorbinsav a testnedvben változó koncentrációban oldottan jelen lévő, a neurotranszmitterek mérését zavaró elektroaktív komponens, az anion zavarását optimált vastagságú, ioncserélő Nafion® (DuPont) réteg alkalmazásával sikerült kiküszöbölöm.

Ismert jelenség, hogy alkalmas inger hatására a kiváltott válasz után gyorsan megjelenő biológiai folyamatokban résztvevő elektroaktív anyagok rövid időn belül eliminálódnak. A műszer tervezésekor döntő szempont volt a biológiában való alkalmazhatóság, ezért a berendezés alapvetően gyors, (ms időtartományban végbemenő) anyagkoncentráció-változások detektálására hangolt (gyors szkennelésű ciklikus voltammetria, FSCV). Korábbi kísérletek szerint a dopaminerg neuronokban gazdag nucleus accumbens területen a fénystimulusok hatására a dopaminerg neuronok tüzelési aktivitása nő. A megfigyeléseket alkalmazva voltammetriás méréseket kezdtem élettani jelenségek vizsgálatára.

Munkám során sikeresen alkalmaztam saját készítésű optimált, neurotranszmitter mérésre alkalmas szelektív mikroelektródot és voltammetriás mérő módszert *in vitro* és *in vivo* mérésekben. FSCV méréseimben az új fejlesztésű biopotenciosztáttal a dopamin felszabadulás detektálható volt.

NeuroBiol_2

**Glutamáterg neuronális elemek azonosítása vesiculáris glutamát
transzporterek immuncytokémiai kimutatásával a patkány
laterális septumában**

Mészáros Gabriella
Szent István Egyetem, Alkalmazott zoológus szak

Témavezető: Dr. Halasy Katalin

A patkány agy lateralis septuma (LS) olyan agyterület, amely mint indirekt idegi szabályozó központ befolyásolja a táplálékfelvétel folyamatát. Előzetes vizsgálatok kimutatták, hogy a terület nagyon gazdag orexigén és anorexigén neuropeptidekben, valamint hogy ezek a neuropeptidek szoros kapcsolatot tartanak fenn a lokális neuronhálózat GABAerg, azaz gátló elemeivel. A serkentő aminosav transzmitter-tartalmú, glutamáterg neuronok szintén jelen vannak ezen az agyterületen, és a más területekről ide érkező serkentő bemenetek jó része is ezt az aminosavat használja transzmitterként. A glutamát azonban minden sejtben jelenlevő molekula, mint a metabolikus aminosav raktárak része. Így annak kimutatása, hogy transzmitterként is közreműködik egy neuron életfolyamataiban, nehézségekbe ütközik. A közelmúltban azonosított vesiculáris glutamát transzporterek azonban jó eszköznek bizonyultak erre a célra.

Munkánk során a vesiculáris glutamát transzporter-1 (VGLUT-1) és -2 (VGLUT-2) fény- és elektronmikroszkópos kimutatásával vizsgáltuk patkányban a LS serkentő neuronális elemeinek morfológiai sajátosságait, a szinaptikus terminálisok posztzinaptikus célelemeit, és ez utóbbiak neurokémiai sajátosságait. Módszereink korrelált fény- és elektronmikroszkópos pre-embedding immuncytokémia, posztembedding immuncytokémia, és fluoreszcens kettős jelölések voltak.

Megállapítottuk, hogy mind az 1. és 2. típusú glutamát transzporter jelen van a laterális septum területén. A VGLUT-1 jóval nagyobb denzitású, mint a VGLUT-2. Elektronmikroszkópos vizsgálataink szerint a VGLUT-1-pozitív terminálisok túlnyomó része dendrittüskéken, míg a VGLUT-2- pozitív terminálisok más neuronok szómáján létesítenek szinaptikus kapcsolatokat. Megállapítottuk továbbá, hogy mindkét transzporter esetében a célsejtek legalább egy része parvalbumin-immunreaktív, azaz GABAerg gátló elem. Emellett kettős jelölések szerint a VGLUT-2-tartalmú szinaptikus terminálisok a helyi neuronális NO-szintetizáló és NPY-tartalmú neuronokkal is kapcsolatban vannak.

Vizsgálataink a serkentő elemek altípusainak azonosításával hozzájárulnak a lateralis septum neuronhálózatának minél pontosabb feltérképezéséhez.

NeuroBiol_2

Különböző eredetű óriás serkentő terminálisok eloszlása és konvergenciája patkány szomatoszenzoros thalamusában

Plattner Viktor
Szent István Egyetem, Biológia BSc szak

Témavezető: Dr. Acsády László

A thalamicus neuronok (relésejtek) működését alapvetően óriás, serkentő terminálisok ún. irányító (driver) bemenetek határozzák meg. Ezek eredete alapján a thalamus magok két csoportra oszthatóak: elsőrendű magokra, melyek subcorticalis központokból kapnak óriás, serkentő terminálisokat, és magasabbrendű magokra, melyek a corticalis ötödik rétegi piramisjelektől kapnak irányító bemenetet. Subcorticalis irányító bemenet a magasabbrendű magokba is érkezik. Ez az alábbi, eddig megválaszolatlan kérdéseket veti fel:

Hogyan oszlanak el a magasabbrendű magokba érkező corticalis és subcorticalis eredetű óriás, serkentő terminálisok egymáshoz képest? Mennyire hasonlóak ultrastrukturális tulajdonságaikban és célelem szelektivitásban? Van-e olyan thalamicus relésejt, amely egyszerre kap kérgi és kéreg alatti irányító bemenetet?

Munkám során a patkány thalamus magasabbrendű szomatoszenzoros magjával (nucleus posterior, Po) foglalkoztam. Hogy vizsgálni tudjuk a két különböző eredetű driver egymáshoz viszonyított eloszlását anterográdf pályajelölő anyagot juttatunk az S1 szomatoszenzoros kéregbe, míg a perifériás terminálisok megjelenítésére, azok szelektív markerét (vezikuláris glutamát transzporter 2-es típusú fehérje) alkalmaztuk. Eredményeink azt mutatják, hogy a perifériás terminálisok eloszlása a Po-ban foltszerű. Egyes területeken sűrűn, másokon ritkán fordulnak elő, sőt vGlut 2+ terminálisoktól mentes területeket is megfigyeltünk. A kérgi terminálisok eloszlása szintén foltszerű volt. A kérgi óriás, serkentő terminálisok jelentős része fordult elő vGlut 2+ terminálisban gazdag területen.

Emellett megfigyeltük őket perifériás terminálisban ritka és azoktól mentes területen is. A kérgi óriás butonok sem teljes szelektivitást, sem teljes elkerülést nem mutattak a perifériás terminálisban gazdag területekhez képest. Az elektronmikroszkópos vizsgálatok anatómiailag bizonyítják, hogy adott relésejt egyszerre kaphat kérgi és perifériás irányító bemenetet, valamint, hogy a két különböző eredetű terminális ultrastrukturálisan és célelem szelektivitásuk tekintetében is hasonló.

Adataink alapján arra következtethetünk, hogy a magasabbrendű magokba érkező kétféle „driver” bemenet hasonló anatómiai szerveződésű, jelenlétük egyformán meghatározó a szomatoszenzoros működés szempontjából, amit a laborunkban folyó párhuzamos *in vivo* elektrofiziológiai vizsgálatok is megerősítenek. Továbbá, eredményeink a thalamus relé funkciója mellett rávilágítanak egy új típusú, különböző eredetű információk integrálásán alapuló működésre, melynek alapja két különböző eredetű driver konvergenciája egy sejten.

NeuroBiol_2

Kinurenin moduláló hatása a patkány Gasser-dúc CGRP és TRPV1 formalin-indukált expresszióváltozására

Pődör Borbála
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Párdutz Árpád, Dr. Toldi József

A migrénes fejfájás során a trigemino-vascularis rendszer aktivációja észlelhető. A trigeminális szomatikus fájdalomérzés egyik állatkísérletes modellje a régióba adott szubkután formalin injekció, amely aktiválja a nociceptorokat és a trigeminális elsődleges érző neuronokat, melyek a Gasser-dúcban találhatóak.

A calcitonin gén-relációs peptid (CGRP) alapvető szerepet játszik a nocicepcióban és a migrénes fejfájásban. A tranziens potenciál receptor (TRPV1, capsaicin receptor) szintén fontos a fájdalomérzés modulálásában és az érző rendszer szenzitizációjában, amely jelenség migréneseknél is ismert és fontos klinikai jelentőséggel bír.

A triptofán metabolizmus során keletkező kinureninek sok egyéb hatás mellett szerepet játszhatnak a fájdalomérzés modulálásában.

Kísérleteinkben arra kerestünk választ, hogy a trigeminális areába adott formalin injekció hogyan befolyásolja a Gasser-dúc CGRP és TRPV1 expressziót; illetve, hogy az L-kinureninnel történő előkezelés, amely az NMDA antagonistá kinurénsav előanyaga, képes-e ezt a hatást megváltoztatni.

Kísérleteinket felnőtt hím SPRD patkányokkal végeztük. Az állatok először L-kinurenin (300 mg kg⁻¹ i.p.) vagy placebo előkezelést kaptak. Egy órával ezután uretan altatásban unilaterális formalin injekciót (50 µl, 5%) kaptak az V/2 régióba. Négy órával később az állatokat perfundáltuk, a Gasser-dúcokat eltávolítottuk, immunhisztokémiai módszerrel CGRP és TRPV1 festést végeztünk, és a pozitív sejteket megszámoztuk.

Eredményeink szerint a formalin szignifikánsan lecsökkenti a CGRP- és megemeli a TRPV1-pozitív sejtek arányát a kezeléssel azonos oldali trigeminális ganglionban a kontroll oldalhoz viszonyítva. Ezt a hatást az L-kinurenin előzetes beadása képes kivédeni, amely feltehetően az NMDA receptorokon keresztül valósult meg.

Adataink közelebb vihetnek a fájdalominger hatására a trigeminalis elsődleges érző neuronokban létrejövő változások feltérképezéséhez, és ezen hatásokat moduláló új támadáspontú vegyületek megismeréséhez. Ezáltal jobban megérthetjük a trigeminalis nocicepció és szenzitizáció pontos mechanizmusát.

NeuroBiol_2

**Memória deficitet okozó amyloid-béta(1-42) és egy potenciális
gyógyszerjelölt pentapeptid hatásának vizsgálata patkánymodellen**

Varga Edina
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Penke Botond, Dr. Kis Zsolt

Az Alzheimer-kór (AK) a központi idegrendszer olyan progresszív mentális hanyatlással járó betegségformája, melyet kórszövettanilag toxikus amyloidot tartalmazó intracellulárisan megjelenő neurofibrilláris kötegek és extracellulárisan előforduló amyloid plakkok együttes előfordulása jellemez. A kognitív diszfunkciókért elsősorban az A β (1-42) peptidet tartják felelősnek, mely főként az entorhinális kéreg, a hippocampusz és a neokortex területén extracelluláris plakk formájában rakódik le. Ezen területek funkcióbeli károsodása tanulási és memóriazavarok kialakulásához vezethet.

Tanulmányunk célja egy megbízható, az AK patológiás folyamatait rekonstruáló állatmodell továbbfejlesztése; ezen a modellen az entorhinális kéregbe injektált oligomer A β (1-42) és egy gyógyszerjelölt pentapeptid, az LPYFD hatásának magatartás vizsgálata és szövettani értékelése. Kísérleteinkhez Wistar-Harlan hím patkányokat (n=40, 300-350 g-os) használtunk; az operáció során bilaterálisan injektáltunk az entorhinális kéregbe. Az állatokból 4 kezelési csoportot hoztunk létre, egy kontroll (fiziológiás sóoldat), egy LPYFD-vel, egy LPYFD- és A β (1-42)-vel, s végül egy A β (1-42)-vel kezelt csoportot. A magatartásteszteket 7-10 nappal az operálás után kezdtük meg.

Nyílt porond teszttel az állatok lokomotoros aktivitását és az anxietásra jellemző paramétereket vizsgáltuk. A tárgyfelismerés teszttel a hosszútávú memóriát mértük fel, a térbeli memóriát pedig a Morris-féle vízilabirintussal teszteltük. A rövidtávú memória tesztelésére Y-labirintus tesztet alkalmaztunk.

Kísérleteink során a nyílt porond tesztben, valamint a tárgyfelismerés tesztben nem tapasztaltunk szignifikáns eltérést az egyes kezelési csoportok között. A Morris-féle vízilabirintusban az amyloiddal kezelt állatok a zavarás során szignifikánsan rosszabbul teljesítettek a többi csoportnál. A rövidtávú memóriát vizsgáló Y-tesztben nem tapasztaltunk különbséget a kezelési csoportok között. Az amyloiddal kezelt csoportnál GFAP immunhisztokémiával kimutatható volt a hiperreaktív asztrociták megnövekedett száma az injektálás területén, ugyanezt a többi csoportnál nem tapasztaltuk. Ezen eredményeinket Western Blot módszerrel is alá tudtuk támasztani; az amyloidos csoport GFAP intenzitása mindhárom csoportnál szignifikánsan nagyobb volt. Az élő neuronok számának meghatározását krezilibolya festéssel végeztük, ebben az esetben is az előzőekhez hasonlóan szignifikáns különbséget kaptunk a csoportok között.

Eredményeink alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy az entorhinális kéregbe injektált oligomer A β (1-42) károsítja a térbeli memóriát. A Morris-féle vízilabirintus és a hisztológiai eredmények alapján LPYFD pentapeptid képes kivédeni a neurotoxicitást az általunk alkalmazott koncentrációban.

Neurofiziológia tagozat

Időpont: Április 8. 15:00

Terem: M épület, 3. terem

A zsűri elnöke: **Dr. Győri János**, tudományos főmunkatárs
MTA Balatoni Limnológiai Kutatóintézet

tagjai: **Dr. Hernádi István**, tanszékvezető egyetemi docens
Pécsi Tudományegyetem, Kísérletes Állattani és
Neurobiológiai Tanszék

Dr. Pirger Zsolt, tudományos munkatárs
MTA Balatoni Limnológiai Kutatóintézet

15:00	Barkóczy Balázs	SZTE TTIK	A fibrilláris A β 1-42 az NMDA receptor aktivitását integrin receptoron keresztül fokozza
15:20	Chiovini Balázs	SZTE TTIK	A β 1-42-ből származtatott pentapeptidok védőhatása az A β oligomer ellen in vivo elektrofiziológiai vizsgálatokban
15:40	Fiáth Richárd Balázs	PPKE ITK	Kortikális lassú oszcillációk és a bajuszingerlés kapcsolata altatott patkányban
16:00	Máté Zsuzsanna	SZTE TTIK	A mangán akut és szubkrónikus neurotoxikus hatásának vizsgálata patkány szomatoszenzoros kérgén
16:20	Nagy Bálint	ELTE TTK	A lassú kérgi ritmus vizsgálata alvásdeprivált patkányokban
16:40	Szünet		
16:50	Takács Szabolcs	SZTE TTIK	A 3-nitropropionsav akut hatásainak vizsgálata patkány szomatoszenzoros rendszerén
17:10	Veres Judit	ELTE TTK	A gamma oszcilláció kialakulása a hippocampusz CA1 régiójában
17:30	Völgyi Katalin	ELTE TTK	Az A β aggregáltsági fokának és fiziológiai hatásának új összefüggései

NeuroFiz

A fibrilláris A β 1-42 az NMDA receptor aktivitását integrin receptoron keresztül fokozza

Barkóczy Balázs
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Szegedi Viktor, Dr. Farkas Tamás

A leggyakoribb neurodegeneratív megbetegedés, az Alzheimer-kór kialakulásában jelentős szerepet tulajdonítanak a β -amyloid 1-42 (A β 1-42) extracelluláris felhalmozódásának. Az uralkodó hipotézis szerint az A β 1-42 a Ca²⁺ permeábilis NMDA (N-metil-D-aszpartát) receptor aktivitását fokozza, mely hosszú távon túlzott Ca²⁺ beáramlást, végül excitotoxicitást okozhat a sejtben. De azt még nem tudják pontosan, hogy az A β 1-42 hatásának háttérben milyen molekuláris folyamatok állnak.

Kísérleteinkben extracelluláris *in vivo* egy-sejt elvezetést és mikroiontoforézist végeztünk altatott hím patkányok hippocampusában szénszálas multibarrel elektródával. A neuronokat 5 másodperces NMDA ejektálással ingereltük percenként, és beállítottunk egy stabil kontroll tüzelési számot. Ezek után a sejt felszínére vagy fibrilláris A β 1-42-t, vagy fibrillumot és valamelyik vegyületet: Src kináz gátlót (PP2), vagy integrin antitestet ejektáltunk. Az általunk használt amyloid oldat az aggregációs formák közül csak fibrillumot tartalmazott, ezt transzmissziós elektronmikroszkóp (TEM) és dinamikus fényszórás (DLS) módszerekkel állapítottuk meg.

Fibrillum ejektálásának hatására az NMDA receptor aktivitása fokozódik. Ha a fibrillum mellett egy funkciógátló integrin antitestet is adagolunk a sejt felszínére az NMDA receptor aktivitása kontroll szinten marad. Egy membránpermeábilis Src tirozin-kináz gátló, a PP2 úgyszintén kontroll szinten tartja az NMDA receptor aktivitását. Kontrollként egy membránpermeábilis EGFR tirozin-kináz gátlót alkalmaztunk, amely a kísérletben nem bizonyul védő hatásúnak.

A sejtadhézióban résztvevő integrin receptor intracelluláris szignál kaszkádot aktivál (a kaszkád egyik tagja az Src kináz), amely végső soron az NMDA receptor foszforilálódásához és aktivitásának megváltozásához vezet. Eredményeinkből az következik, hogy a fibrilláris A β 1-42 képes kötődni az integrin receptorhoz és aktiválni azt. Ezáltal tudja az NMDA receptorra gyakorolt hatását kifejteni. A funkciógátló integrin antitest vagy Src kináz gátló képes megszakítani ezt a jelátviteli útvonalat, tehát az NMDA receptor aktivitása nem fokozódik. Ezen útvonal további vizsgálatával az Alzheimer-kór kezelésének újabb célpontjai tárulhatnak fel.

NeuroFiz

**A β 1-42-ből származtatott pentapeptidek védőhatása az A β
oligomer ellen *in vivo* elektrofiziológiai vizsgálatokban**

Chiovini Balázs

Szegedi Tudományegyetem, Biológia szak

Témavezetők: Dr. Szegedi Viktor, Dr. Toldi József

Az Alzheimer-kór egyik jellemzője az amyloid-béta (A β) felhalmozódása és plakokká történő összecsapzódása az agyban. Ennek az aggregációs útvonalnak egyik lépcsőfoka a fibrillum (fA β) mellett az oligomer (oA β), melynek az utóbbi időben egyre kiemeltebb szerepet tulajdonítanak, mint a betegség fő okozója. Az amyloid az extracelluláris térben felhalmozódva fejt ki negatív hatását a neuronokra, többek közt közvetetten az NMDA (N-metil-D-aszpartát) receptorokon keresztül.

Kísérleteinkben az NMDA receptor aktivitás változását néztük oA β hatására patkány hippocampus CA1-es neuronokon *in vivo* extracelluláris egy-sejt elvezetéssel kombinált mikroiontoforézissel. Lehetséges védőanyagként három, A β -ből származtatott pentapeptidet alkalmaztunk: LPFFD, LPYFD és RIIGL.

A vizsgálatokhoz klorál-hidráttal altatott 250-330 g-os hím Wistar patkányokat alkalmaztunk. Sztereotaxis készülékbe rögzítve az állat fejét, a hippocampus feletti koponya részt és a dura matert eltávolítottuk. Multibarrel szénszálas elektróda használatával egy sejt akciós potenciáljait vizsgáltuk. A kapillárisok a következő oldatokat tartalmazták: NMDA, A β 1-42 oligomert és az egyik pentapeptidet, illetve valamelyik pentapeptid és oA β keverékét.

A sejtet 60 sec-ként NMDA-val ingerelve beállítottunk egy kontroll akciós potenciál számot. Csak oA β 1-42 ejektálására az NMDA receptor aktivitása megnőtt. Eredményeink szerint az LPYFD az oligomer általi védelemben nem bizonyult egyértelműnek, az LPFFD és az RIIGL viszont hatásos védőanyagoknak tűnik. Megelőző kísérletekben megállapítottuk, hogy az RIIGL és az LPYFD fA β ellen szintén véd, míg az LPFFD nem.

Úgy gondoljuk, hogy a kétfajta aggregáltsági fokú A β 1-42-nek eltérő konformációja és így eltérő szupramolekuláris felszíne lehet. Ez az, amely befolyásolhatja a hozzá kapcsolódó fehérjék kötődésének erősségét. Elmondhatjuk, hogy a három pentapeptid közül az RIIGL volt a leghatásosabb védőanyag az A β 1-42 mindkét aggregációs formájának NMDA receptort befolyásoló hatása ellen. Így az RIIGL - amely az aggregált A β 1-42 felszínéhez kötődik - egy vezető vegyület lehet az Alzheimer-kór kezelésére, megelőzésére kifejlesztendő gyógyszermolekulák terén.

NeuroFiz

Kortikális lassú oszcillációk és a bajuszingerlés kapcsolata altatott patkányban

Fiáth Richárd Balázs

Pázmány Péter Katolikus Egyetem, Műszaki Informatika szak

Témavezetők: Dr. Ulbert István, Dombovári Balázs

Mély alvási fázis során, illetve altatásban az agykéreg szinte egész területén egy kb. 0,5-2 Hz-es lassú oszcilláció figyelhető meg, melyet a kérgi neuronok membránpotenciál-ingadozása okoz. A hiperpolarizált állapotot „down state”-nek nevezzük: a neuronok ekkor egyáltalán nem, vagy alig tüzelnek és az agykéreg felszíni rétegeiben negatív polaritású, mélyebb rétegeiben pedig pozitív polaritású lokális mezőpotenciál jellemzi. A depolarizált állapotot „up state”-nek hívjuk: fokozott tüzelési aktivitás figyelhető meg, lokális mezőpotenciáljának polaritása pedig ellentétes a „down state”-nél ismertetettel.

Korábbi kutatásokban intracelluláris elvezetések vizsgálatával, altatott patkány elsődleges szomatoszenzoros kérgében kimutatták, hogy rövid idejű periódikus bajuszingerlés hatására a lassú oszcilláció aktuális állapota megváltozhat: „up state”-ből „down state” illetve „down state”-ből „up state” váltás mehet végbe az aktuális állapottól függően.

Célom altatott patkány parietális asszociációs kérgéből elvezetett lokális mezőpotenciál és a többsejt-aktivitás elemzésével választ adni a következő kérdésekre: van-e kapcsolat a szenzoros ingerléssel kiváltott válaszok és a lassú oszcilláció állapotai között altatás alatt? Vajon a szenzoros ingerlés válthat-e ki „up state”-eket illetve „down state”-eket? Képes-e a bajuszingerlés a lassú oszcilláció vezérlésére, szinkronizálására?

A kísérleteket ketamin-xylazinnal altatott patkányokon végeztük. A műtétek során egy 24 csatornás multielektrodót implantáltunk az állatok agyának parietális asszociációs kérgi részébe, mely a különféle szenzoros jelek integrációjáért felel. Az akut elvezetések során a lassú kérgi oszcillációkat vizsgáltuk, miközben - egy léptető-motorból kialakított készülék segítségével - ingereltük az altatott állat bajuszszőreit. A bajuszingerléseket eltérő frekvenciákkal, ingerhosszakkal és ingererőségekkel megismételtük. Többféle számítógépes elemző módszerrel megvizsgáltam a bajuszingerlés által befolyásolt agyi jeleket, valamint a spontán lassú oszcillációkat tartalmazó, ingerlésmentes elvezetéseket is.

Eredményként azt kaptam, hogy az ingerek jelentős része röviddel (kb. 50-100 ms) az „up state” illetve „down state” kezdetek előtt volt jelen, vagyis a szenzoros ingerlés képes megváltoztatni a lassú oszcilláció aktuális állapotát a parietális asszociációs kéregben. Ezen kívül megfigyeltem, hogy az ingerlés képes volt hosszabb-rövidebb ideig szinkronizálni a lassú oszcillációt. A kapott eredmények alapján látható, hogy szenzoros ingerléssel nem csak az elsődleges szomatoszenzoros kéregben, hanem a parietális asszociációs kéregben is befolyásolhatóak a lassú oszcilláció állapotai.

NeuroFiz

**A mangán akut és szubkrónikus neurotoxikus hatásának vizsgálata
patkány szomatoszenzoros kérgén**

Máté Zsuzsanna
Szegedi Tudományegyetem, Biológia szak

Témavezetők: Dr. Papp András, Dr. Szabó Andrea, Dr. Toldi József

A mangán (Mn) kis mennyiségben nélkülözhetetlen nyomelem az emberi szervezet számára; ám nagyobb mennyiségben toxikus, elsősorban az idegrendszert károsítja. A főbb foglalkozási expozíciós források a hegesztés, bányászat, és bizonyos növényvédőszeresek lehetnek; míg a lakosság benzin-adalékanyag, továbbá szennyezett élelmiszer vagy ivóvíz által exponálódhat. Tartós kitettség mellett a Mn kumulálódik a központi idegrendszerben, aminek következtében neurodegeneratív – Parkinson-kórhoz hasonló – tünetek alakulnak ki (manganizmus). A dopaminerg, GABAerg és kolinerg rendszer károsodása, valamint a mitokondriumok működésének zavara egyaránt szerepet játszanak a tünetek kialakulásában. A neurotoxikus hatás kialakulásának komplex hatásmechanizmusa, valamint hogy a tünetek csak az expozíciót követően későn, akár évek elteltével jelennek meg, megnehezíti a betegség korai felismerését.

Kísérleteinkben egy olyan elektrofiziológiai módszerrel kimutatható paramétert kerestünk, mely lehetővé teszi a Mn-expozíció hatásának minél előbbi kimutatását. Korábbi kísérletek alapján a bajuszmező kettős ingerlésével kiváltott szomatoszenzoros akciós potenciálok más mitokondriális toxinok hatásaira érzékeny paraméternek bizonyultak. Ebből kiindulva, kísérleteinkben, altatott patkány primer szomatoszenzoros kérgéről 20 perces időközönként kettős ingerléssel különböző interstimulus intervallumokkal, kiváltott posztzinaptikus potenciálokat vezetünk el. Két kísérlet sorozatot végeztünk: az akut kísérletben négy kontroll felvétel után 50 mg ml^{-1} MnCl_2 -dal intraperitoneálisan kezeltük az állatokat, majd további 9 regisztrátumot rögzítettünk.

A szubkrónikus kezelés 6 hétig tartott. Ez alatt az állatok $2,5 \text{ mg ml}^{-1}$ koncentrációban, csapvízben oldva kapták a MnCl_2 -ot, majd a kezelési periódus végén állatonként 2 felvételt készítettünk. A kiváltott potenciálok latencia és csúcstól-csúcsig mért amplitúdó értékeit vizsgáltuk, valamint kiszámítottuk a kettős kiváltott potenciálok analóg paramétereinek arányát (második:első arány) mindkét kísérleti protokollban. Az akut kísérletben kissé megnyúlt latenciaidejű és jelentősen nagyobb amplitúdójú potenciálok jöttek létre a Mn beadást követően. A krónikus kezelés hatására azonban a kontroll csoport adataihoz viszonyítva a kettős kiváltott potenciálok közül a második potenciál csúcstól-csúcsig mért amplitúdója kissé lecsökkent, latenciaideje viszont szignifikánsan lerövidült az első potenciál megfelelő paramétereire képest (kisebb második:első arány). A Mn intoxikáció monitorozására tehát akut esetben az amplitúdó értékek, még krónikus expozíció esetén a latencia értékek második:első aránya bizonyult érzékeny paraméternek.

NeuroFiz

A lassú kérgi ritmus vizsgálata alvásdeprivált patkányokban

Nagy Bálint

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Hajnik Tünde

Az alvás-ébrenlét váltakozása a legnyilvánvalóbb példája a biológiai ritmusoknak. Az alvást cirkadián és homeosztatisz tényezők együtt szabályozzák. A homeosztatisz komponens bizonyítja, hogy alvásmegevonás után erőteljes pótlás következik. Depriváció után a mélyalvás megnövekedett hosszal és intenzitással jelentkezik. A mélyalvás intenzitásának növekedését a delta frekvencia tartomány teljesítményének megnövekedése jelzi az EEG-ben. Az EEG delta tartományba eső ingadozásainak háttérben a piramisettek membránpotenciáljainak változásai állnak. Ez az ún. lassú kérgi ritmus: egy depolarizált (up-state) és egy hiperpolarizált (down-state) állapot váltakozása.

Vizsgálatainkban arra kerestük a választ, hogy az alvásmegevonás milyen hatással van a lassú kérgi ritmus egyes jellemzőire, és ezen jellemzők melyike felelős a delta teljesítmény növekedésért. Kísérletünket éber, szabadon mozgó patkányokon végeztük, melyekbe előzőleg transzkortikális elektródokat ültettünk.

A kapott eredmények alapján arra következtethetünk, hogy az alvásdepriváció után elsősorban a hiperpolarizált állapot gyakorisága növekszik, a hiperpolarizáció nagyságának és átlagos hosszúságának változása kevésbé jelentős.

NeuroFiz

**A 3-nitropropionsav akut hatásainak vizsgálata patkány
szomatoszenzoros rendszerén**

Takács Szabolcs
Szegedi Tudományegyetem, Biológia szak

Témavezető: Dr. Papp András

A 3-nitropropionsav (3NP) egy természetes mitokondriális toxin, mely a szukcinát-dehidrogenáz inhibitora, és emberi mérgezést is okozhat; elsősorban az *Arthrimum*, *Aspergillus* és *Penicillium* nemzetségekbe tartozó, élelmiszer-károsító penészgombafajok 3NP-termelése révén. A kialakuló központi idegrendszeri elváltozások nagymértékű hasonlóságot mutatnak a Huntington-kór jellegzetes hisztopatológiai következményeivel, így annak modellezésére alkalmasak.

Sokkal kevesebb figyelmet kapott eddig azonban a 3NP agykéregre gyakorolt közvetlen hatásainak elektrofiziológiai tükröződése, noha ilyen hatás jelentkezése várható, és annak gyakorlati jelentősége is lehet. Felnőtt him Wistar patkányokon uretánnal történő altatásban feltártuk a bal agyféltekét, és ezüst elvezető elektródákat helyeztünk a szomatoszenzoros területre. Az első kísérletsorozatban az elektródát a bajuszszálak projekciós területére helyeztük, majd az ellenoldali bajuszpárnát 50-es sorozatokban elektromos négyszögimpulzussal ingerelve felvettük a kéri válaszokat. Felvételre került a spontán kéri aktivitás is.

Az inger intenzitását 25% és 100% (éppen szupramaximális) között, a frekvenciáját 1 és 10 Hz között változtattuk, és ábrázoltuk az ingerlési paraméterek és a kéri válasz jellemzői közötti összefüggést. A második kísérletsorozatban farok szomatoszenzoros projekciós területére is helyeztünk elektródát, és tüelektródákat szúrtunk a farok tövébe, valamint onnan 50 mm-re disztálisan. Ekkor az ingerlést (100%, 1 Hz) a bajuszpárna (20-as sorozat) és a farktő (50-es sorozat) kapta. Mindkét esetben 3 kontroll felvételt készítettünk, 30 perces időközzel, majd intraperitoneálisan beadtunk 20 mg tskg⁻¹ 3NP-t, és változatlan ütemezésben további 4 felvételt készült.

Méréseink alapján a 3NP a kéri kiváltott potenciálban egyértelmű latencia-csökkenést okozott, kevésbé határozott amplitúdó változással. A frekvencia- és intenzitásfüggés a kezelés előtti állapothoz képest kifejezettebbé vált. A kéri pontokban illetve a farokidegben kapott változások összevetése alapján a 3NP hatása a központi idegrendszerre összpontosul, kevésbé észlelhető perifériásan, ugyanakkor a szomatoszenzoros kéreg különböző területein erősen homogén mind a latencia, mind az amplitúdó tekintetében.

Ha további vizsgálatok során ezek a megfigyelt eltérések elég érzékenyek és specifikusnak bizonyulnak, technikai fejlesztéssel esetlegesen olyan kísérleti eszközzé (biomarkerré) válhatnak, mellyel a 3NP-n alapuló betegségmodell kifejlődése viszonylag egyszerűen és akár nem-invazív módon követhető.

NeuroFiz

A gamma oszcilláció kialakulása a hippocampusz CA1 régiójában

Veres Judit

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Hájos Norbert, Zemankovics Rita

A hippocampusz jellegzetes viselkedésfüggő aktivitásmintázatai közül a gamma oszcillációnak (30-100 Hz) a memória tárolásában és előhívásában tulajdonítanak szerepet, kialakulásának hátteréről azonban még keveset tudunk.

Az *in vivo* és *in vitro* mérések azt igazolják, hogy bizonyos körülmények között a hippocampális CA3 régióban kialakuló ritmikus aktivitás vezérli a CA1 régióban megfigyelhető szinkron aktivitásokat, de az oszcilláció áttejedésének mechanizmusa még nem ismert.

Munkám során akut agyseleteken vizsgáltam a CA3 és CA1 régió sejtípusainak viselkedését kolinerg agonista indukálta gamma oszcilláció alatt. A vizsgálatok során a sejtek tüzelését és a rájuk érkező szinaptikus áramokat viszonyítottam a lokális mezőpotenciál-oszcilláció fázisához. A CA1 piramis sejteknek csak fele volt fáziskapcsolt, ezek az oszcilláció negatív csúcsán tüzeltek, míg az interneuronok többnyire fáziskapcsoltan sültek ki az oszcilláció emelkedő szakaszában. A CA1 piramis sejteken dominált a fázikus gátlás, míg az interneuronokon erős fázikus serkentés volt megfigyelhető. A CA3 piramis sejtekhez képest a CA1 piramis sejtek valamivel előbb, míg a CA3 és CA1 interneuronok egy monoszinaptikus kapcsolatnak megfelelő késéssel tüzeltek.

Ezen adatok alapján felállítható egy modell, mely szerint a gamma oszcilláció során a CA3 piramis sejtek fázikus serkentése szabályozza a CA3 és a CA1 gátlósejtek kisülését, míg a CA1 piramis sejtek tüzelését a CA1 interneuronokból érkező fázikus gátlás szabja meg.

NeuroFiz

**Az A β aggregáltsági fokának és fiziológiai hatásának új
összefüggései**

Völgyi Katalin

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Juhász Gábor, Orbán Gergely

A β -amyloidnak (A β) jelentős szerepe van az Alzheimer kórnak, az öregedő emberiség egyik leggyakoribb betegségének kialakulásában. Az A β egy aggregációra hajlamos fehérje, amely az amyloid prekursor protein (APP) hibás hasításának terméke. Az aggregáció egy folytonosan előrehaladó folyamat Gauss eloszlást követő eloszlási profillal, mértéke függ a kezdeti amyloid koncentrációtól is.

Az amyloid oldatokban tehát egy időben többféle oligomer van egyszerre jelen, ennek tudható be, hogy az irodalom az aggregáltsági fok és a fiziológiai hatás összefüggése tekintetében nagyon ellentmondásos. Régebben azt hitték, hogy a nagyobb méretű aggregátumok a neurotoxikusak, az újabb irodalmi adatok szerint azonban a kisebb méretű szolubilis oligomerek a károsabb hatásúak. A kisméretű aggregátumok könnyen bejuthatnak a szinaptikus résekbe, s így befolyásolhatják a szinaptikus plaszticitást, míg a nagyobbak kint maradva extraszinaptikusan hathatnak.

Elképzelésünk igazolására különböző méreteloszlású, karakterizált β -amyloid oldatok patkányok hippokampális populációs tüzelésére kifejtett hatását vizsgáltuk, akut és krónikus kísérletekben. Megállapítottuk, hogy a 24 órás aggregátum növeli, a 72 órás csökkenti a neuronális excitabilitást, míg a monomer hatástalan.

Eredményeink az amyloid hatás új aspektusát tárják fel, jó modellt jelenthetnek a molekuláris mechanizmusok további megismerésére, valamint közelebb vihetnek egy korai diagnózisra alkalmas fiziológiai eljárás kidolgozásához is.

Növényélettan tagozat

Időpont: Április 9. 09:00

Terem: O épület, 4. terem

A zsűri elnöke: **Dr. Mészáros Ilona**, tanszékvezető egyetemi docens
Debreceni Egyetem, Növénytani Tanszék

tagjai: **Dr. Allaga József**, egyetemi docens
Pannon Egyetem, Növénytudományi és Biotechnológiai
Tanszék

Dr. Szalai Gabriella, tudományos főmunkatárs
MTA Mezőgazdasági Kutatóintézete

09:00	Erdeg Atila	SZTE TTIK	A nitrogén-monoxid hatása a zárósejtek membrántranszportjára és fotoszintézisére
09:20	Kónya Zoltán, Tándor Ildikó	DE TTK	A mikrocisztin-LR hatása a mitotikus citoskeleton és kromatin szerveződésére <i>Vicia faba</i> gyökércsúcsokban
09:40	Molnár Réka	PTE ÁOK	A medvehagyma (<i>Allium ursinum</i> L.) nektáriumszerkezete, nektárprodukcója, a nektár és a méz speciális metabolitjai
10:00	Pap Mátyás	PE MK	Fagyállóságot befolyásoló tényezők vizsgálata búzában
10:20	Reining Márta	PTE TTK	Hazánkban termesztett repcefajták (<i>Brassica napus</i> L.) nektárprodukcója, nektárösszetétele és méhészeti jelentőség
10:40	Szünet		
10:50	Sági Zsuzsanna, Hederics Tamás	NYME TTMK	Sörárpa fajták szárazágtűrés vizsgálata
11:10	Horváth Edit, Sulyok Zita Katalin	SZTE TTIK	SA-indukált reaktív oxigénformák sóstressznek kitett paradicsomban: akklimatizáció vagy programozott sejthalál
11:30	Tóth Tünde	SZTE TTIK	A fotoszintézis gátlása kadmiummal <i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803 sejtekben. Az elsődleges és másodlagos hatások elkülönítése

NövÉt

**A nitrogén-monoxid hatása a zárósejtek membrántranszportjára
és fotoszintézisére**

Erdeg Atila

Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Horváth Ferenc

A nitrogén-monoxid (NO) szabadgyök jelátvitelben betöltött szerepe a növényi sejtek esetében is bebizonyosodott. A gáz halmazállapotú NO olyan növekedés szabályzó anyag, mely elsősorban a védekező reakciók és az oxidatív stressz során keletkezik, de a sztómazáródásban és a mezofill sejtek fotoszintézisének szabályozásában is részt vesz. A kutatásom célja a NO hatásának vizsgálata a sztómazáró sejtek membrántranszportja és fotoszintézise tekintetében.

A sztómányílások méretét, így a fotoszintézishez szükséges CO₂ beáramlását illetve a párologtatásból eredő vízvesztést a zárósejtek térfogata határozza meg. A zárósejtek duzzadása arányos a befelé irányuló kálium árammal, melyet Shaker-típusú kálium csatornák közvetítenek. Bebizonyosodott, hogy a NO az abszcizinsav jelátviteli út komponensként emeli a citoszolikus szabad Ca²⁺ koncentrációt, ezáltal csökkenti a befelé irányuló kálium áramot és zárja a sztómákat. Az *Arabidopsis*-ban azonosított kilenc Shaker-csatorna génből öt, nevezetesen a KAT1, a KAT2, az AKT1, az AKT2/3 és az AtKC1 zárósejtekben is expresszáldó monomerek.

Kutatási céljaink egyike, hogy kiderítsük a NO lehetséges gátló hatását homo- és heterotetramer Shaker-csatornák esetén. A kísérletekhez használt ioncsatorna géneket *Arabidopsis thaliana* cDNS könyvtárból azonosítottuk, majd megfelelő primereket tervezve, PCR segítségével amplifikáltuk. Az így nyert géneket pEGFP-N2 vektorba klónoztuk, mellyel humán embrionális vesesejteket (HEK293) transzfektáltunk.

Munkám során a KAT1 csatorna génjét expresszáldó HEK293 sejteken patch clamp vizsgálatokat végeztem. Megállapítottam, hogy a zárósejtekben legnagyobb mértékben expresszáldó homotetramer KAT1 csatorna még magas (100 μM) NO koncentráció esetén sem inaktíválódik. A csatornaáram sem az extracelluláris, sem az intracelluláris oldal felől nem bizonyult Ca²⁺-függőnek, tehát a közvetett, Ca²⁺-függő szabályozás a KAT1 homotetramer esetén nem érvényesül.

A zárósejtek fotoszintézise sok tekintetben különbözik a mezofill sejtektől. A zárósejtek fluoreszcencia indukciós kinetikája mikroszkópos PAM módszerrel a mezofill sejtektől függetlenül vizsgálható. A NO fotoszintézisre gyakorolt hatása mezofill sejtek esetén a második fotokémiai rendszerhez (PSII) köthető. A zárósejt protoplasztok vizsgálata során megállapítottam, hogy a NO a mezofill sejtekhez hasonlóan csökkenti az optimális- és effektív kvantumhasznosítást, valamint a fotokémiai kioltást. Arra következtettem, hogy a NO fotoszintézist gátló hatása miatt kevesebb ozmotikusan aktív cukor és kevesebb ATP képződhet, mely a plazmamembrán alacsonyabb mértékű hiperpolarizációját eredményezi, így a gázserenyilások nyitódását akadályozza.

NövÉt

A mikrocisztin-LR hatása a mitotikus citoszkeleton és kromatin szerveződésére *Vicia faba* gyökércsúcsokban

Kónya Zoltán

Debreceni Egyetem, Molekuláris biológus szak

Tándor Ildikó

Debreceni Egyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Máthé Csaba, Beyer Dániel

A mikrocisztin-LR (MCY-LR), egy protein foszfatáz gátló cianotoxin citológiai hatását vizsgáltuk a *Vicia faba* (lóbab) csíranövényekben. A lóbab a Fabaceae család tagja. Kitűnő modellnövény, mert nem kíván különös bánásmódot, könnyen kezelhető, kis számú és nagyméretű kromoszómával rendelkezik.

Célul tűztük ki, hogy feltárjuk a mikrocisztin hatását a gyökércsúcsok merisztéma sejtjeinek mitotikus aktivitására és a sejtosztódási rendellenességek megjelenésére. Munkánk az első olyan átfogó vizsgálat, amely a MCY-LR által indukált mikrotubuláris és kromatin szintű változásokat mutatja be az edényes növények mitotikus sejtjeiben.

Jelen tanulmányban bebizonyítottuk, hogy a MCY-LR jelentősen befolyásolja a *Vicia faba* csíranövények növekedését. Alacsony cianotoxin koncentráció serkenti, 1-20 mg l⁻¹ MCY-LR gátolja az epikotil megnyúlását. A cianotoxin gátolja az oldalgyökerek fejlődését, de 0,5-5 mg l⁻¹ koncentrációban serkenti a meglévő oldalgyökerek megnyúlását. Magas cianotoxin koncentrációk (5-20 mg l⁻¹) nekrotikus szövet megjelenését indukálták.

A morfológiai változásokkal párhuzamosan, a MCY-LR megváltoztatta a *Vicia* oldalgyökerek merisztéma sejtjeiben a mitotikus aktivitást. 0,5-5 mg l⁻¹ MCY-LR, az oldalgyökerek megnyúlásának serkentése mellett, megnövelte a profázisban és a telofázisban lévő sejtek arányát. 10 mg l⁻¹ MCY-LR a metafázisok arányát növelte meg, szignifikáns mértékben. Az általunk vizsgált teljes cianotoxin koncentráció tartományban (0,5-20 mg l⁻¹) észleltünk rendellenességeket a mitotikus mikrotubulusok és a kromatin szerveződésében, és mikronukleuszok megjelenését detektáltuk az oldalgyökerek csúcsában. Kísérleteink összegzése: (1) a MCY-LR által indukált mikronukleusz képződést valószínűleg a rendellenes kromoszóma szegregáció okozza; (2) a profázis kivételével, az összes mitotikus fázisban a MCY-LR által indukált mitotikus anomáliákat a mikrotubuláris rendszer változásai okozzák.

NövÉt

A medvehagyma (*Allium ursinum* L.) nektárium szerkezete, nektárprodukcója, a nektár és a méz speciális metabolitjai

Molnár Réka

Pécsi Tudományegyetem, Gyógyszerész szak

Témavezető: Dr. Farkas Ágnes

A medvehagyma (*Allium ursinum* L.) gyógyhatása a fokhagymáéhoz (*A. sativum* L.) hasonló, de kevesebb hatóanyagot tartalmaz. Fő hatóanyag-perkurzora az alliin aminosav, melyből alliin liáz révén képződik az allicin, ami a virító virágokból alig mutatható ki. Kutatásunk során célul tűztük ki a nektárt kiválasztó nektárium szerkezetének leírását, a nektárprodukcó vizsgálatát, a nektár cukorkomponenseinek meghatározását, illetve az alliin és az allicin nektárban és mézben való detektálását – bizonyítandó jótékony hatását a szív- és érrendszerre.

Vizsgálatainkat 2005-2008 között végeztük a Mecsek és a Bakony gyertyános tölgyeseiben. A nektárium szerkezetét fénymikroszkóppal és scanning elektronmikroszkóppal vizsgáltuk. A nektár térfogatát kalibrált kapillárisal, cukortartalmát kézi refraktométerrel mértük; a cukorkomponensek mennyiségét vékonyréteg kromatográfiával (TLC) és denzitometriával határoztuk meg. A fehérjék vizsgálatát – az alliin liáz kimutatását – poliakrilamid gélelektroforézissel (SDS-PAGE) végeztük. Az aminosavak és származékaik detektálását HPLC/MS eljárással vizsgáltuk.

Az *A. ursinum* az Alliaceae család többi tagjához hasonlóan szeptális nektáriummal rendelkezik, a termőlevelek összenövése mentén 3 sugárirányú hasíték és azt körülvevő szekréciós szövet formájában. Keresztmetszetben a mirigy epithelialis sejtjei oszlop alakúak, rendszerint 2 sejtsort alkotnak. Az általuk bélelt hasíték folytatásaként egy kivezető csatorna figyelhető meg, melynek falát izodiametrikus sejtek alkotják.

A virágok kevés (az egyes évek átlagában 0,43, 0,30, 0,93 és 1,18 $\mu\text{l}/\text{virág}$), de tömény (30-55% cukortartalmú) nektárt termelnek. A fésző bimbóban csak kivételesen van nektár, a fel nem nyílt portokú virágokban több a szekréció, a legjobb nektártermelők (0,1-1,1 $\mu\text{l}/\text{virág}$) a pollenszóró virágok. Egy virág nektártermelése 4-5 napig tart. 2005-ben a három fő nektárcukor komponens (glükóz, fruktóz, szacharóz) közül a szacharóz nem volt kimutatható az egyik populáció esetében, 2006-tól viszont mindhárom detektáltuk mindegyik élőhelyen.

A mézben és a nektárban az alliin mennyisége kevesebb, mint 100 ng ml^{-1} , és allicint sem tartalmaznak $2-300 \text{ ng ml}^{-1}$ -nél nagyobb mennyiségben. Úgy tűnik, az alliináz enzim jelen van a nektárban, igazolására enzimaktivitás vizsgálatokat tervezünk. A pollenanalízis szerint a vizsgált mézekben az összes virágpornak csak 6-12%-a medvehagyma pollen. A fentiek értelmében ennek a méznek nem tulajdoníthatunk pozitív szív- és érrendszeri hatást, csupán egy tavaszi vegyes virágméz általános jótékony hatásával bír.

NövÉt

Fagyállóságot befolyásoló tényezők vizsgálata búzában

Pap Mátvás

Pannon Egyetem, Környezettudományi szak

Témavezetők: Dr. Janda Tibor, Dr. Padisák Judit

Korábbi kutatások bebizonyították, hogy még a jó fagyállósággal rendelkező őszi búzafajták (*Triticum aestivum* L.) növekedésük bizonyos periódusában megkívánnak egy alacsony, de nem fagyponthoz alatti hőmérsékletet a fagyállóság kialakításának érdekében. A fagyállóság kialakulásában a hőmérsékleten kívül a fénynek is szerepe van. Vizsgáltam, hogy az őszi búzákon kívül a tavaszi búzafajták is edzhetőek-e a „normál” (megemelt fény mennyiségű és normál hőmérsékletű, valamint csökkentett fény mennyiségű és fagyponthoz közeli hőmérsékletű) edzési módszer mellett „alternatív” módszerekkel, azaz normál hőmérsékletű megemelt fényintenzitás mellett is.

Különböző búzafajtákon végeztem fagyállósági teszteket és kerestem választ arra, hogy vajon mennyire korrelál a normál fényen és hidegben elért fagyállóság az alacsony fény mennyiségű, de hidegben, valamint a magas fény mennyiségű, de normál hőmérsékletűn elért fagyállósággal. Vizsgáltam, vajon milyen biokémiai folyamatok járulnak hozzá a különböző megvilágítási és hőmérsékleti viszonyok mellett elért fagyállósághoz.

A kísérleti növényeket fitotron kamrában neveltük, ezáltal kísérleteink reprezentatívvá és tervezhetővé váltak. Az enzimaktivitási vizsgálatokat gélelektroforézis, valamint spektrofotometria segítségével végeztük. A poliamin- és tiol mennyiség meghatározását HPLC segítségével hajtottuk végre.

Kutatásaink megmutatták, hogy az őszi búzafajták mellett a tavaszi búzafajták is edzhetőek „alternatív” edzési módszerekkel, ám ezek a módszerek nem érik el a „normál” edzési mechanizmus (normál fény mennyiségű és fagyponthoz közeli hőmérsékletű) hatásfokát. Túlélési kísérleteink eredményeit olyan biomolekulák koncentrációváltozásának szemléltetésével támasztottuk alá, melyek fontos szerepet játszanak a különböző akklimatizációs folyamatokban, hatástalanítanak számos aktív oxigénformát, és változtatják a stresszhatásnak kitett növényeket – különböző akklimatizációs folyamatokon keresztül – mind morfológiailag, mind fiziológiailag stresszrezisztensé.

NövÉt

**Hazánkban termesztett repcefajták (*Brassica napus* L.)
nektárprodukcója, nektárösszetétele és méhészeti jelentősége**

Reining Márta
Pécsi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Farkas Ágnes, Dr. Varróné Dr. Darók Judit

A repce (*Brassica napus* L.) sokoldalúan felhasználható: a magjából préselt olajat étkezési célokra és a festékiparban használják, a teljes növényből pedig biodízelint állítanak elő. A méhek a virágokból pollent és nektárt gyűjtenek, utóbbiból mézet állítanak elő. A méhek elvégzik a keresztbeporzást, ami – bár a repce önbeporzó – növeli a becők méretét és a becőnkénti magok számát, fokozva a terméshozamot. Tehát fontosak a méhészeti szempontok a megfelelő repcefajta kiválasztásakor, amihez munkánkkal segítséget kívánunk nyújtani.

2005-2008 között 26 repcefajtát és -hibridet vizsgáltunk Pécs környékén. A 24 órás nektárprodukciónál kalibrált kapillárisokkal, cukortartalmát refraktométerrel határoztuk meg. A nektár cukorösszetételét vékonyréteg-kromatográfiával és denzitometriával állapítottuk meg. A fajták méhészeti jelentőségére a cukorértékből és a nektárcukrok arányából következtettünk.

A virágok korát tekintve a frissen kinyílt és a pollenszóró virágok a legjobb nektártermelők. A virágzási fenofázisok közül a zömvirágzás biztosítja a legjobb nektártermelést, mind a fiatal (2-4 µl, 15-35%), mind a pollenszóró virágokban (0,2-4,4 µl, 30-40%). A virágzás elején és főleg a végén kisebb a nektárprodukción és a cukorszázalék is.

A Valesca fajtánál 2007-ben, az Ontario-nál 2008-ban figyeltük meg a nektár szekréciójának napi dinamikáját. A portokok felnyílásával párhuzamosan a nektárszekréció is intenzívvé vált, mindkét fajtánál azt tapasztaltuk, hogy a déli és a kora délutáni órákban (12, 14 és 16 órák) volt a legtöbb és legterményesebb a szekréció.

2008-ban 21 repcefajtát és -hibridet értékeltünk méhészeti szempontból, a nektár zömvirágzás idején mért cukorértékét (nektár térfogat x refrakció / 100) alapul véve. Az Ontario fajta (0,58) és a Champlain hibrid (0,54) kitűnt 0,5 feletti cukorértékével, a legkisebb értéket (0,15) pedig a PR45D03 fajtánál mértük.

A repcennektár cukorösszetételére jellemző a hexózok dominanciája, benne csak glükóz és fruktóz található. A vizsgált fajták többségénél a két cukorkomponens aránya a fruktóz irányába tolódik el 4:6 arányban.

A glükóz/fruktóz hányados megállapítása méhészeti jelentőséggel bír, hiszen utal a méz kristályosodási hajlamára: minél jobban megközelíti, vagy túllépi az 1-es értéket, annál gyorsabb a kristályosodás. A 2006-ban és 2007-ben vizsgált Triangle és Valesca repce 1 körüli értékekkel jellemezhetőek; a 2008-ban vizsgált repcék jól szerepeltek, még a legnagyobb érték (Dekade: 0,68) sem utalt gyors kristályosodásra.

NövÉt

Sörárpa fajták szárazágtűrés vizsgálata

Sági Zsuzsanna

Nyugat-magyarországi Egyetem, Biológia-matematika szak

Hederics Tamás

Nyugat-magyarországi Egyetem, Biológia-történelem szak

Témavezető: Dr. Skribanek Anna

Munkánkat a Táplánszentkereszti Gabonakutató Kht. 40 tavaszi árpa fajtát és vonalat magába foglaló kutatási programjához kapcsolódva végeztük. Dolgozatunk célja egy növénynemesítésben használható, egyszerű és olcsó laboratóriumi vizsgálati módszer kidolgozása, mellyel csíranövény korban a fajták, vonalak és törzsek szárazágtűrő képességére következtethetünk.

A 40 fajtát és vonalat 3 ismétléses laboratóriumi kísérletbe vontuk, a magok a 2006 és 2007 évi termésből származtak. Laboratóriumi körülmények között a szárazság stresszt polietilén-glikol (PEG) oldattal modelleztük. A 7 napig vízkultúrában nevelt csíranövényeket 20%-os PEG oldattal stresszeltettük. Mértük a hervedást, száraz- és nedves tömeget, gyökér- és hajtáshosszúságot, valamint a levelek szacharóz és prolin tartalmát. A fajtákat és vonalakat öt különböző helyszínen négyismétléses szántóföldi kísérletekben is vizsgálták, melynek termésátlag adatait használtuk fel számításainkhoz.

Az eredményeket a Bioassay-módszer felhasználásával értékeltük. A szántóföldi és laboratóriumi kísérleti adatait standardizáltuk, majd a tulajdonságok közötti összefüggéseket többtényezős korellációs együtthatókkal határoztuk meg.

Megállapítottuk, hogy a csíranövények gyökérhosszúsága és a levelek nedves- és száraztömege csökkent, míg a szárazanyag, prolin és szacharóz tartalom és a hervedás nőtt. Az eredmények tehát megfelelnek az irodalomban leírtaknak, bár a fajták és vonalak jelentős mértékben különböztek egymástól a stresszválaszaik tekintetében. Összefüggés vizsgálatok segítségével meghatároztuk az egyes vizsgált tulajdonságok közötti és a szántóföldi terméseredmények korrelációját.

A fajták és vonalak szárazságstressz tűrő képességének jellemzésére a szántóföldi kísérletekben mutatott terméseredményeit használtuk fel. A 2006-os nedves és a 2007-es extra száraz évek terméskülönbségei mutatják a szántóföldi szárazágtűrést. A laboratóriumi kísérleti eredményeinket korreláltattuk a terméskülönbséggel, azonban így csak gyenge, közepes korrelációkat kaptunk. A kapott eredmények alapján az egymással nem, de a szárazágtűréssel korreláló tulajdonságok összevonása után azonban egy úgynevezett összevont tolerancia indexet készítettünk, mely jól korrelál a szántóföldi szárazágtűréssel.

Ezen mutatóban szereplő tulajdonságok együttes vizsgálata, tehát már alkalmas lehet szelekciós bélyegnek a nemesítés korai szakaszában.

NövÉt

SA-indukált reaktív oxigénformák sóstressznek kitett paradicsomban: akklimatizáció vagy programozott sejthalál

*Horváth Edit, Sulyok Zita Katalin
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak*

Témavezetők: Dr. Tari Irma, Gémes Katalin

A magas sókoncentráció okozta stressz a növényekben oxidatív stresszt idéz elő. Ez vezethet az egyed halálához, de hozzájárulhat az akklimatizációhoz is. Kísérleteinket paradicsom növények levelén, gyökerén és a levélszövetből készített protoplasztokon végeztük. Intakt növényeken a szalicilsav (SA) koncentrációtól függően reaktív oxigénformák (ROS), így H_2O_2 , szuperoxid gyökion ($O_2^{\cdot-}$), és NO akkumulációját valamint poliaminok (PA), abszcizinsav (ABS) és etilén termelését idézi elő, ami indukálhat további ROS képződést, de szerepet játszhat a ROS kioltásában is. Vizsgáltuk, hogy a SA előkezelés hogyan befolyásolja a sóstressz akklimatizációt és mi a szerepe az SA-indukált ROS-nak az akklimatizációban vagy a sejtek programozott halálában (PCD) paradicsom növényekben. A növekedésszabályozók hatását a ROS képződés és a ROS-NO interakció vizsgálatára protoplasztokon is modelleztük. A $O_2^{\cdot-}$ -t tetrazóliumkék festékkel, a H_2O_2 -ot intakt növényben diaminobenzidinnel, protoplaszton diklorofluorescein diacetáttal mutattuk ki. A szövetek életképességét fluoreszcein diacetáttal, a NO-ot pedig diaminofluoreszcein diacetát festékkel, fluoreszcens mikroszkóppal vizsgáltuk.

Intakt növényekben a PCD-t okozó SA koncentrációk erőteljes H_2O_2 akkumulációt indukáltak, míg az akklimatizációt okozó koncentrációknál ez a hatás mérsékeltebb. A protoplasztokban szignifikáns H_2O_2 akkumulációt csak a PCD-t okozó SA kezelés eredményezett, ami gátolható volt difenilén jodóniummal (DPI), a H_2O_2 -ot generáló NADPH oxidáz enzim gátlásával. Az SA hatására akkumulálódó növekedésszabályozó anyagok emelték a H_2O_2 mennyiségét, aminek DPI-vel történő gátlása a putreszcin és ABS kivételével szignifikánsan fokozta az életképességet. Hasonló változások történtek a NO mennyiségében is a kezelések hatására. Az SA indukálta PCD kiváltó oka a ROS megemelkedése, a putreszcin és az ABS viszont a ROS-ra és a NO-ra gyakorolt hatással együtt is megtartja a protoplasztok életképességét.

Mértük a H_2O_2 és a NO szintjét SA koncentrációk és sókezelés kombinációját alkalmazva is. A 100 mM NaCl jelentős H_2O_2 és NO akkumulációt okoz, ami 30%-ra csökkentette a sejtek életképességét. Az SA kezelések hatására a ROS és a NO is visszaáll a kontroll szintre, ez tovább DPI-vel nem gátolható. Az SA előkezelés tehát a sókezelésnél akkumulálódó H_2O_2 és NO mennyiségének csökkenésével éri el sóstressz akklimatizációt elősegítő, rövid távú hatását. Megállapítható, hogy a H_2O_2 is képes a NO szintézisének szabályozására, hiszen ha a H_2O_2 szintjét csökkentettük a NADPH oxidáz gátlásával, kataláz vagy aszkorbát kezeléssel, az maga után vonta a NO termelés csökkenését is.

NövÉt

**A fotoszintézis gátlása kadmiummal *Synechocystis* sp. PCC 6803
sejtekben: Az elsődleges és másodlagos hatások elkülönítése**

Tóth Tünde
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Kovács László, Dr. Garab Győző, Dr. Erdei László

A kadmium az egyik leggyakoribb - a természetben felhalmozódó, antropogén eredetű - hosszú biológiai felezési idejű, toxikus nehézfém. Az ökoszisztémák alapját képező autotróf élőlények különösen érzékenyek erre a nehézfémre. A kadmium algákban és növényekben több fotoszintetikus reakciót gátol. A pontos hatásmechanizmus azonban az intenzív kutatások ellenére sem ismert, és nem tisztázott, hogy mely hatás tekinthető elsődlegesnek és melyek az indirekt hatások.

Kísérleteink során a kadmium (Cd^{2+}) fotoszintézisre gyakorolt hatásait tanulmányoztuk *Synechocystis* sp. PCC 6803 sejtekben, nem-invazív módszerek (O_2 polarográfia, abszorpciós és fluoreszcens spektroszkópia, klorofill-*a* fluoreszcencia indukció, valamint termolumineszcencia) segítségével.

A cianobaktérium sejtek kadmiummal szembeni érzékenységét mutatja, hogy már alacsony Cd^{2+} ($10 \mu M$) koncentráció is képes a sejtosztódás teljes gátlására, ami azt is jelzi, hogy a Cd^{2+} ionok könnyen behatolnak a sejtbe. A kadmium ionok fotoszintézisre gyakorolt hatásának vizsgálatakor két, időben jól elkülönülő fázist tapasztaltunk.

$40 \mu M$ Cd^{2+} kezelés hatására a sejtek teljes fotoszintetikus elektrontranszportlánc aktivitása már 5 perc alatt jelentősen csökken és 1 óra alatt teljesen megszűnik, ami a fotoszintézis érzékenysége mellett, a sejtek gyors Cd^{2+} felvételét is mutatja. Ugyanakkor, ha az elektrontranszportlánc második (PSII) és első fotokémiai rendszerének (PSI) aktivitását külön-külön vizsgáljuk, nem tapasztalunk ezen időintervallumban olyan mértékű változást, ami indokolná ezt a nagymértékű gátlást. Ezért, és mivel a gátlás sötétben tartott sejtekben is kialakul, megállapítható, hogy az elsődleges hatóhely a ferredoxin kötőhely után, a fotoszintézis sötét reakcióinak valamelyikén (a Calvin-Benson-ciklus valamelyik enzimén vagy CO_2 -koncentráló mechanizmusban) lokalizálható.

A PSII aktivitásának csökkenése – amit az irodalomban gyakran a kadmium elsődleges hatóhelyeként tartanak számon – csak hosszabb idejű kezelés hatására alakul ki, míg a PSI aktivitása és mennyisége változatlan marad. A PSII gátlása erősen fényfüggő folyamat. Az általunk alkalmazott alacsony fényintenzitáson ($20 \mu mol m^{-2} s^{-1}$ fotonáram sűrűség mellett) 10 óra alatt közel 50%-ra csökkent, míg ugyanezen idő alatt sötétben alig gátlódik. Termolumineszcencia mérések és a mért gyors fluoreszcencia kinetikák azt mutatják, hogy az aktivitás csökkenését a reakciócentrum degradációja okozza. Ezek az adatok azt mutatják, hogy a PSII gátlása másodlagos hatás, amit valószínűleg a teljes elektrontranszportlánc gátlása és a fény együttes hatása okoz.

Növényökológia tagozat

Időpont: Április 8. 15:00

Terem: N épület, 111. terem

A zsűri elnöke: **Dr. Bartha Sándor**, tudományos tanácsadó
MTA Ökológiai és Botanikai Kutatóintézete

tagjai: **Dr. Cservenka Judit**, kutatási szakreferens
Balaton-felvidéki Nemzeti Park Igazgatóság,
Természetmegőrzési Osztály

Dr. Kalapos Tibor, egyetemi docens
Eötvös Lóránd Tudományegyetem,
Növényrendszertani és Ökológiai tanszék

15:00	Csatári István	DE TTK	Extenzív fitoremediáció hosszú távú vizsgálata (kunszentmártoni példa)
15:20	Demeter Zita	DE TTK	Kárpát-medencei védett <i>Crocus</i> fajok szövettanyasztása
15:40	Lengyel Attila	PTE TTK	Indikátorértékek koncentráció-analízise és átlagolása a baranyai mezofil rétek példáján
16:00	Lengyel Edina	PE MK	Egyensúlyi állapot és diszturbancia vizsgálatok a Torna-patak kovaalga közösségeiben
16:20	Molnár Hajnalka	PTE TTK	Szén-dioxid gázcsere paraméterek vizsgálata egy új energianövényen
16:40	Szünet		
16:50	Németh Zoltán	SZIE MKTK	Gyomállományok komplex és manipulatív ökofiziológiai vizsgálata; az egyes klímaelemek hatása az ökofiziológiai paraméterekre
17:10	Pethő Zsolt	SZIE MKTK	Két pillangósvirágú növény (<i>Cicer arietinum</i> L., <i>Trigonella foenum-graecum</i> L.) emelt CO ₂ koncentrációra adott ökofiziológiai válaszai
17:30	Vikár Dóra	SZIE MKTK	Parlagok szekunder szukcessziójának vizsgálata, különös tekintettel azok gyomviszonyaira

NövŐko

**Extenzív fitoremediáció hosszú távú vizsgálata
(kunszentmártoni példa)**

Csatári István

Debreceni Egyetem, Környezettudományi szak

Témavezető: Dr. Lakatos Gyula

Napjainkra az emberi tevékenység következtében a környezet egyre nagyobb mértékben szennyeződik, és ez alól sajnos talaj sem kivétel, ezért a talaj fém szennyezésével és a szennyezések ártalmatlanításával kapcsolatos kutatások egyre nagyobb jelentőséget kapnak. A szennyezett területek remediálására az egyik legmegfelelőbb módszer a jövőben talán a fitoremediáció alkalmazása lehet. A dolgozat keretében krómmal szennyezett terület, a Pannónia Rt. kunszentmártoni börtgyárának egykori szennyvíz üleptő tórendszerének vegetációját tanulmányoztuk Cr-, Pb-, Cu-, Mn-, Fe- akkumulációs szempontból, a fitoremediációra potenciálisan alkalmas növényfajok megismerése érdekében.

A terület közvetlenül a börtgyár mellett, a Körös folxó egykori árterén helyezkedik el, ma a Körös-Maros Nemzeti Park igazgatási területéhez tartozik. A mintavételezés a 2003-2008-as időszakban a nyár végi terepbejárások alkalmával történt. Helyszíni méréseket végeztünk, illetve meghatároztuk a terület flórájának fajösszetételét. A laboratóriumban további vizsgálatokra került sor. A kutatás keretében vegetáció vizsgálatot végeztünk, amiből kiderült, hogy a terület flórája meglehetősen diverz, így több növényfajt tudunk vizsgálni. Meghatároztuk a mintavételi terület üledékének nehézfém koncentrációját, a toxicitás mértékét, ezáltal igazoltuk, hogy a terület meglehetősen szennyezett, így fitoremediációs vizsgálatokra és kezelésre alkalmas. Mértük a növények különböző frakcióiban a nehézfémkoncentrációt, és a növényeket, ezáltal két csoportba, a gyökérakkumulálók és hajtásakkumulálók csoportjába tudtuk sorolni. A kutatás végső célja a fitoremediációra alkalmas növényfajok kiválasztása volt. Összefoglaltuk a kutatás eredményeit, illetve az ismereteket, ezáltal a fitoremediációban felhasznált növényfajokat és azok természetes állományait ki tudtuk választani.

NövÖko

Kárpát-medencei védett *Crocus* fajok szövettenyésztése

Demeter Zita

Debreceni Egyetem, Biológia-kémia tanár szak

Témavezető: Dr. Máthé Csaba

Célunk olyan *in vitro* növényi szövettenyésztési eljárások kidolgozása volt, amely *Crocus* szövetbank létrehozását teszi lehetővé. Kísérleteinkben a Kárpát-medencében honos, védett *Crocus* fajok *in vitro* tenyésztését kívántuk kidolgozni. A következő fajokat céloztuk meg: *Crocus heuffelianus*, *C. scepusiensis*, *C. vittatus*, *C. banaticus*.

Kallusztényeszeteket állítottunk elő három *Crocus* faj explantátumaiból. A *Crocus vittatus* hagymagumóin 2 mg l⁻¹ NAA és 1 mg l⁻¹ BA tartalmú módosított Murashige-Skoog táptalajon képződött első generációs kalluszok nem bizonyultak életképesnek. Stabil kallusz-vonalat tudunk előállítani *Crocus heuffelianus* hajtáscsúcsból módosított Murashige-Skoog táptalajon, 10 mg l⁻¹ NAA (auxin) és 1 mg l⁻¹ BA (citokinin) és *Crocus scepusiensis* hajtáscsúcsból 1 mg l⁻¹ 2,4-D (auxin) és 4 mg l⁻¹ KN (citokinin) jelenlétében.

A *Crocus heuffelianus* kalluszok embrió- és organogenezis lehetőségét hordozzák magukban. A hormonarányok (NAA/BA) megfordításával, a magas citokinin/ auxin aránnyal sikerült a jól növekedő *Crocus heuffelianus* kalluszokon szomatikus embriók, majd szervezdemények kialakulását indukálni. Ez a stratégia követi a „klasszikus” elveket az auxin/citokinin arány organogenezist kiváltó hatásairól. Bebizonyítottuk, hogy a makroelemek, mikroelemek és vitaminok koncentrációjának nagymértékű csökkentése a táptalajban, jelentősen befolyásolja a növényregenerálás sikerességét.

Axenikus körülmények között hidegkezelt és gibberellinkezelt *Crocus heuffelianus* és *Crocus scepusiensis* magvakat csíráztattunk hormonmentes illetve 0,5 mg l⁻¹ NAA 0,5 mg l⁻¹ BA tartalmú módosított Murashige-Skoog táptalajon, 15 °C-on sötétben. A keletkező csíranövényekből stabil kalluszvonalat állítottunk elő 10 mg l⁻¹ NAA és 1 mg l⁻¹ BA jelenlétében módosított Murashige-Skoog táptalajon.

Kutatási eredményeink előrevetítik egy, nagyszámú növény előállítására alkalmas *C. heuffelianus* szövetbank létrehozását. Munkánk elsősorban konzervációbiológiai jelentőséggel bír, hiszen a *C. heuffelianus* védett kárpát-medencei faj.

NövŐko

Indikátorértékek koncentráció-analízise és átlagolása a baranyai mezofil rétek példáján

Lengyel Attila
Pécsi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Csiky János, Dr. Botta-Dukát Zoltán

A vegetáció indikátorértékekkel való vizsgálata régi hagyományokkal bíró megközelítés az európai növényökológiában. A szemlélet lényege, hogy a növényfajokhoz ökológiai igényeik szerint diszkrét változók rendelhetők, melyek a gyakorlatban információt adhatnak az előfordulási helyeik környezeti adottságairól. A faj szintjéről magasabb, közösségi szintre történő becslésre az indikátorértékek (súlyozott) átlagolását használják legelterjedtebben, ez azonban ordinális skálán mért indikátorértékek (pl. az Ellenberg-féle indikátorrendszer) esetében matematikailag inkorrekt lépés. A problémára matematikailag korrekt megoldást kínál a koncentráció-analízis.

Ebben a dolgozatban átlagolással és koncentráció-analízissel mezofil réti felvételekre kiszámított indikátorértékek kapcsolatát vizsgálom. Első lépésben a két módszerrel kapott értékek korrelációját keresem, majd őket többváltozós elemzésekben környezeti változókként alkalmazva a magyarázó erejüket hasonlítom össze.

Eredményeim szerint az átlagolás és a koncentráció-analízis értékei biológiailag értelmes, a felvételek által lefedett gradiens-tartománynak megfelelő indikátorkategóriák esetén lineárisan korrelálnak. A koncentráció-analízis kilenc- vagy tizenkétfokú indikátorskálákkal nem működik, emiatt csoportösszevonásokat igényel. A csoportok összeállítására azonban nagyon érzékeny, emiatt a szubjektív hiba lehetősége jelentős. Az átlagolás ezzel szemben robusztusabb eredményt ad, kevésbé érzékeny a kategóriák számára.

Következésképpen elmondható, hogy a koncentráció-analízis nem hoz érdemi javulást a fajról közösségi szintre történő becslésben, vagyis az átlagolás is meglehetősen pontos, illetve robusztussága miatt praktikusabb becslési módszer.

Növőko

**Egyensúlyi állapot és diszturbancia vizsgálatok a Torna-patak
kovaalga közösségeiben**

Lengyel Edina
Pannon Egyetem, Környezettudományi szak

Témavezető: Dr. Stenger-Kovács Csilla

A bevonatlakó algák sok szempontból fontosak. Nemcsak elsődleges termelők, hanem kiváló biológiai indikátor szervezetek, melyek alkalmasak a felszíni vizek ökológiai állapotának megítélésére. Ennek oka, hogy érzékenyen reagálnak a különböző környezeti hatásokra. A fizikai, biológiai és kémiai hatások a közösséget kialakító tényezők.

A kutatás elsődleges célja az equilibrium állapot és a kovaalga közösség bolygatásra adott válaszána vizsgálat volt. A kísérletet 2008. április és 2008. augusztus között végeztük, melynek kezdetekor 120 db 10x10 cm-es mészkő szubsztrátot helyeztünk ki. Ezt követően az első négy hétben 3 naponta, majd hetente gyűjtöttünk be egy-egy szubsztrátot, illetve helyszíni méréseket (oldott oxigén, hőmérséklet, vezetőképesség, pH) és vízkémiai analízist (főionok, tápanyagformák meghatározása) is végeztünk.

A szukcesszió kezdeti fázisban elsőként telepedtek meg a *Fragilaria capucina* var. *vaucheriae*, *Gomphonema olivaceum* és a *Navicula lanceolata* fajok egyedei.

A nitrit ion koncentrációjának változásával szoros összefüggést mutatott a *Cocconeis placentula* ($r=-0,55$, $p=1\%$), *Nitzschia frustulum* ($r=-0,43$, $p=2\%$), *Nitzschia palea* ($r=-0,50$, $p=1\%$) relatív gyakorisággal. Az ammónium ion mennyisége a *Cocconeis placentula* ($r=-0,39$, $p=5\%$) relatív gyakoriságát, a KOI pedig a *Navicula lanceolata* ($r=-0,62$, $p=0,1\%$) és a *Cocconeis placentula* ($r=0,43$, $p=2\%$) relatív gyakoriságát befolyásolta leginkább.

A tavaszi és nyári mintákban a leggyakoribb fajok az *Achnanthes lanceolata*, *Achnanthes minutissima*, *Cocconeis placentula*, *Cyclotella ocellata*, *Fragilaria capucina* var. *vaucheriae*, *Gomphonema olivaceum*, *Gomphonema parvulum*, *Navicula gregaria*, és *Navicula lanceolata* voltak. Egyensúlyi állapotot csupán egy alkalommal lehetett feltételezni, a kihelyezést követő kilencedik napon.

NövŐko

Szén-dioxid gázcsere paraméterek vizsgálata egy új energianövényen

Molnár Hajnalka

Pécsi Tudományegyetem, Környezettudomány szak

Témavezető: Salamonné Dr. Albert Éva

A biomasszanövényként potenciálisan alkalmas Szarvasi-1 energiafű (*Elymus elongatus* cv.) szén-dioxid gázcsere paramétereinek idő- és térbeli változásait vizsgáltuk. A méréseket a növény jellemző vegetatív fenofázisaiban, a legaktívabb leveleken végeztük IRGA-rendszerű, hordozható gázanalizátorral.

A kísérleti növényanyag szabadföldi parcellákról és tenyészedényes kultúrákból származott. A gázcsere paraméterek közül a szerves anyag termelését jól jellemző nettó fotoszintetikus ráta és a szén-dioxidra vonatkoztatott sztómakonduktancia adatait értékeltük. A termőterületek és a fenofázisok összehasonlítására két nevezetes mennyiséget használtunk: a maximális nettó fotoszintetikus rátát és a fénykompenzációs pontot. A nettó fotoszintetikus rátára leeffektívebb a fotoszintetikus aktív radiáció volt, ez adta a legszorosabb közvetlen kapcsolatot a külső környezeti tényezők közül. Az intercelluláris szén-dioxid koncentráció és az asszimiláció kapcsolata alátámasztotta a növény fotoszintézis típusát. A környezet páratartalma a sztómakonduktancia szabályozásán keresztül, közvetetten befolyásolta a szén-dioxid beépítésének dinamikáját. A növekedés előrehaladtával a szabadföldi parcellákon és a tenyészedényes kultúrákban is gyengült a fotoszintetikus aktív radiáció-, illetve az intercelluláris szén-dioxid koncentráció és a nettó fotoszintetikus ráta kapcsolatának erőssége. A parcellán gyengülő, a tenyészedényes kultúrában pedig erősödő kapcsolatot mutatott a szén-dioxidra vonatkoztatott sztómakonduktancia és a nettó fotoszintetikus ráta.

A két helyszínt összehasonlítva azt tapasztaltuk, hogy a fénykompenzációs pontok és a maximális nettó fotoszintetikus ráta értékek a parcellákon magasabbak voltak, az 5-leveles fenofázisig mindkét helyszínen csökkenő értékeket vettek fel. A fejlődés korai és későbbi stádiumai között szignifikáns különbséget tapasztaltunk a maximális nettó fotoszintetikus ráta alakulásában. Szabadföldön, az erősen változó környezeti feltételek mellett a 2-leveles fenofázisban, a kiegyenlítettebb feltételeket jelentő tenyészedényes kultúrában pedig a 3-leveles fenofázisban tapasztaltuk a legnagyobb asszimilációs értékeket. A fajta egyedfejlődésének korai szakaszában mért maximális nettó fotoszintetikus ráta értékek kisebbek, mint számos ismert mezőgazdasági haszonnövényé, illetve Európában ismert és alkalmazott lágyszárú energianövényé.

Fáaszárúak adataival összehasonlítva a Szarvasi-1 energiafű azok alsó értékeit közelíti meg. Az egyedfejlődés későbbi szakaszában várható intenzívebb szén-dioxid asszimiláció és a kimutatott szerves anyag termelési dinamika alapján hosszabb távon biomassza tüzelésre felhasználható növényként értékelhetjük az energiafűvet.

Növőko

Gyomállományok komplex és manipulatív ökofiziológiai vizsgálata; az egyes klímacsemek hatása az ökofiziológiai paraméterekre

Németh Zoltán

Szent István Egyetem, Agrármérnök szak

Témavezető: Dr. Czóbel Szilárd

Napjainkban a nemzetközi ökoszisztéma kutatások egyik fő célkitűzése a kulcsfontosságú üvegházhatású gázok ciklusainak mérése eltérő élőhelyeken, az eddigi projektek azonban nem vizsgálták a gyomállományok üvegházhatású gáz-fluxusait. Számos gyomfaj ökológiai jellemzője jól ismert, de ökofiziológiai viszonyaik, különösen állományszinten alig kutatottak.

Fentiek miatt kutatásom fő célkitűzése 5 hazánkban általánosan elterjedt gyomfaj, az *Amaranthus retroflexus*, *Ambrosia artemisiifolia*, *Artemisia vulgaris*, *Chenopodium album*, *Sorghum halepense* állományszintű összehasonlító, komplex ökofiziológiai vizsgálata. A növényfajok kiválasztásánál figyelembe lett véve, hogy egyaránt reprezentálva legyenek az archeofitonok, neofitonok és a különböző növényi funkciós csoportok (C3, C4, therophyta, kryptophyta).

A gyomfajok teljes vegetációs ciklusát lefedő kutatása 27 állományfolton, *ex situ* körülmények között történt a SZIE Botanikus Kertjében. Az *Amaranthus retroflexus* (C4) és a *Chenopodium album* (C3) fajokkal manipulatív kísérleteket is végeztem, melyek során taxononként és kezelésként 3-3 ismétlésben részleges csapadékkizárt, illetve öntözött foltokat hoztam létre a kontroll állományok mellett. Ezen kísérletekkel a Kárpát-medencére előrejelzett szélsőséges klímacsemek hatásait vizsgáltam eltérő növényi funkcionális csoportot reprezentáló gyomfajok esetén.

Kutatásom többek között kiterjedt a tőszám, az állománymagasság, a biomassza, az NDVI értékek, a pigmenttartalom, a talajlégzés és az állományszintű CO₂-fluxus méréseire. A rendszeresen ismétlődő mérések mellett a meteorológiai adatokat folyamatosan rögzítettem. Annak ellenére, hogy az egyes fajok eltérő funkciós csoportot képviseltek, továbbá eltérő tőszámmal és biomasszával jellemezhetők, a legtöbb vizsgált paraméter esetén is nagyon hasonló dinamikával rendelkeznek. A vizsgált taxonok kivétel nélkül nagyon jelentős produkciót értek el, ami többszöröse a szakirodalomban fellelhető hazai lágyszárú növényzet értékeinek. Ez egyrészt a kedvező csapadékviszonyokkal, másrészt a hónapokon keresztül fenntartott magas CO₂-fixációval magyarázható. A manipulatív vizsgálatok során több paraméter esetén is jelentős, gyakran szignifikáns eltérést tapasztaltam a kontroll állományokhoz képest. A nyári aszály eltérő mértékben stresszelte az állományokat, mely jól nyomon követhető a talajlégzés és az állományszintű CO₂-fluxus variabilitásában.

A manipulációs kísérletek eredményeként azt tapasztaltam, hogy a tőszámok, a hajtások átlagos magassága, az NDVI értékek, az összpigment-tartalom, az NEE átlagok, valamint a biomassza értékek az állományok teljes kifejlődésekor mindkét fajnál összefüggtek a csapadékviszonyokkal.

NövÖko

Két pillangósvirágú növény (*Cicer arietinum* L., *Trigonella foenum-graecum* L.) emelt CO₂ koncentrációra adott ökofiziológiai válaszai

Pethő Zsolt

Szent István Egyetem, Agrármérnök szak

Témavezetők: Péli Evelin Ramóna, Dr. Tuba Zoltán

A különböző növények klímához való változatos és szélsőséges alkalmazkodásának eredményeként a növények ellenállóbbakká válnak a környezeti stresszhatásokkal szemben, jobban tűrik a szélsőséges környezeti körülményeket. A megemelkedett CO₂ szint jelentős mértékben befolyásolni fogja a növények életfolyamatait és ezen keresztül a termések mennyiségi és minőségi paramétereit.

Ezen alkalmazkodóképesség lehetséges megvalósulását próbáltam nyomon követni két pillangósvirágú növény (*Cicer arietinum* L., *Trigonella foenum-graecum* L.) ökofiziológiai paramétereinek változásai alapján három különböző expozícióban történő beültetéssel egy teljes tenyészidőszak alatt.

Több vizsgált kiemelt fontosságú produkcióökológiai paraméterben szignifikáns eltérést (pl. termésszám, hajtáshossz és termésmégek) tapasztaltam. Részletes elemzést végeztem az ökofiziológiai és a produkcióökológiai paraméterek között. Eredményeim alapján elmondható, hogy a csicseriborsó alkalmazkodóképessége a megváltozott környezeti és vizsgálati (kamrás tartás) körülményekhez fokozottabbnak bizonyult, mint a görögszénáé.

Új eredményként elmondható, hogy még a N₂ fixáló, C/N arányt jól szabályozó pillangós növényekben is van gyökérbe irányuló transzlokáció. A hajtás/gyökér arány csökkenés emelt légköri CO₂ koncentráció hatására mindkét vizsgált fajnál kimutatható. Az emelt CO₂ hatás eredményeként a szénescencia folyamata felgyorsul az összbiomassza mennyisége jelentősen emelkedik. Görögszéna esetében a fotoszintézis downward akklimatizációja (gyökérbe irányuló szén allokáció) érvényesül, míg a csicseriborsónál kezdetben az upward akklimatizáció figyelhető meg emelt légköri CO₂ hatására.

Következésképpen a pillangósvirágúak között is kimutatható akklimatizációs képességbeli különbség. Feltehetően a down regulált görögszéna kevésbé tudja a C/N arányt egyensúlyba tartani, mint a csicseriborsó (további vizsgálatok előkészületben).

NövÖko

Parlagok szekunder szukcessziójának vizsgálata, különös tekintettel azok gyomviszonyaira

Vikár Dóra
Szent István Egyetem, Agrármérnök szak

Témavezetők: Szirmai Orsolya, Dr. Czóbel Szilárd, Dr. Dorner Zita

A témaválasztás időszerűségét az adja, hogy az elmúlt évtizedekben – részben az EU csatlakozás kapcsán – országszerte megnövekedett a felhagyott területek, ezen belül a felhagyott szántók aránya, melyek szekunder szukcessziós vizsgálata mind természetvédelmi, mind gyomszabályozási szempontból egyaránt indokoltá vált.

A dolgozat módszertanát tekintve egy hazánkban viszonylag új, kevésbé elterjedt, az ún. tér-idő elemzés módszerre alapoz, illetve azt kapcsolja össze a már évtizedek óta bevett fitocönológiai gyakorlattal.

A kutatás főbb célkitűzései a következők voltak: *i.)* hosszú időskálán tér-idő helyettesítéses módszer segítségével eltérő korú és művelés alól felhagyott területek szekunder szukcessziós gyomviszonyainak összevetése és jellemzése; *ii.)* a tér-idő helyettesítéses vizsgálatok eredményeit felhasználva a legintenzívebb gyomdinamikával jellemezhető parlagterületek, azaz a fiatal szántók szekunder szukcessziójának részletes vizsgálata, és összehasonlítása. A tér-idő elemzéses és a fiatal parlagterületekhez kapcsolódó szekunder szukcessziós vizsgálatok mintaterületei egymás közelében a Bükk-hegység észak-keleti előterében, Sajókápolna település határában helyezkednek el. A tér-idő elemzéses vizsgálatokhoz a vizsgálati területre és a környező dombvidékekre egyaránt jellemző különböző művelés (legelő/kaszáló, szántó, szőlő) alól felhagyott, eltérő korú parlagok cönológiai mintavételeit (összesen 250 db) használtam fel. A fiatal szántók szekunder szukcessziós vizsgálatához négy kiválasztott (két domb- és 2 síkvidéki) mintaterületen 2007 és 2008 között, tavaszi és őszi aszpektusokban készítettem cönológiai felvételeket (összesen 75 db). A cönológiai mintavétel a növényfajok földfelszínre vetített borítási értékeinek becslésén alapult, a mintavételi négyzetek mérete egységesen 2x2 m volt.

A kutatás eredményei alapján megállapítható, hogy a tér-idő helyettesítéses módszer a gyakorlatban jól felhasználható a különböző művelés alól felhagyott területeken jellemző gyomfajok dinamikájának összehasonlításához és értékeléséhez. Az elemzésből kiderült, hogy összességében a parlagok közül a legintenzívebb gyomdinamikával a fiatal szántók rendelkeztek. A vizsgált felhagyott szántóterületeken a vegetációdinamikai folyamatok sebességét az is jelzi, hogy a felhagyott lucernás állományban 4 évvel a felhagyás után a korábban domináns növényfaj borítása szignifikánsan csökkent. Vizsgálati eredményeim nemcsak alap kutatás jellegűek, hanem a gyomszabályozásban, természetvédelemben, illetve a hasonló dinamikájú területek jellemzése kapcsán is felhasználhatók.

Ökotoxikológia tagozat

Időpont: Április 9. 15:00

Terem: O épület, 5. terem

A zsűri elnöke: **Dr. Kováts Nóra**, egyetemi docens
Pannon Egyetem, Környezetmérnöki Intézet

tagjai: **Dr. Farkas Anna**, tudományos főmunkatárs
MTA Balatoni Limnológiai Kutatóintézet

Dr. Rétfalvi Tamás, egyetemi docens
Nyugat-magyarországi Egyetem, Kémia Tanszék

15:00	Antal Otilia Tamara	BBTE	Cianobaktérium törzsek citotoxicitásának vizsgálata CHO-K1 sejteken
15:20	Bertók Csanád	DE TTK	A <i>Sinapis alba</i> ökotoxikológiai teszt alkalmazása víz- és üledékminták vizsgálatára
15:40	Combi Zsolt	DE TTK	A króm (VI) hatása különböző <i>Spirodela polyrrhiza</i> ökotípusok növekedésére és antocián- felhalmozására
16:00	Fábián Hajnalka	NYME TTMK	Alumínium stressz hatása sörárpa epidermisz morfológiájára
16:20	Kiss Bernadett	DE TTK	Allelokemikáliák vizsgálatára alkalmas csíranövényteszt továbbfejlesztése
16:40	Szilágyiné Bánáti Hajnalka	ELTE TTK	Természetes eredetű proteinázgátlók hatása Cry1-fogékony és -rezisztens aszalványmolyon

ÖkoTox

Cianobaktérium törzsek citotoxicitásának vizsgálata CHO-K1 sejteken

Antal Otilia Tamara
Babes-Bolyai Tudományegyetem, Kolozsvár
Molekuláris biotechnológia

Témavezetők: Dr. Kósa Ferenc, Gácsai Mariann, Dr. Győri János

A cianobaktériumok által kiváltott vízvirágzások köztudottan toxikusak lehetnek. Az általuk termelt cianotoxinok ivóvízbe, vagy fürdővízbe jutva gasztroenteritist, hepatomegáliát, veseelégtelenséget, gyomor- és bélgyulladást, májrákot, lép megbetegedést, izomgörcsöt, légzési zavarokat, bénulást, bőr irritációt vagy allergiás reakciókat okozhatnak.

Ezért fontos felmérni, hogy mely fajok toxikusak, és ezek hatását azonosítani. A sejt kultúrákon való citotoxikológiai mérések a toxikus fajok azonosításán kívül elősegítik annak tisztázását is, hogy a cianobaktérium-törzsek milyen úton fejtik ki hatásukat.

Dolgozatomban édesvízi cianobaktériumokból készített kivonatok és toxinok CHO – K1 (Chinese Hamster Ovary, kínai hörcsög petefészek sejt) sejtekre gyakorolt hatását vizsgáltam. Két tisztított toxint vizsgáltam, a mikrocisztin-LR-t és a cilindrospermopszint. Másik hat cianobaktérium törzsből készített kivonat hatását hasonlítottam össze az előbbi toxinokkal. A törzsek a következők voltak: *Cylindrospermopsis raciborskii* bizonyítottan cilindrospermopszint termelő tenyészet (AQS), *Oscillatoria* sp. (PCC6506) anotoxint termelő törzs és négy Balatonból izolált *Cylindrospermopsis raciborskii* törzs (ACT9502, ACT9503, ACT9504, ACT9505). A toxicitást a laktát dehidrogenáz (LDH) aktivitásának-, mitokondriális dehidrogenázok aktivitásának-, valamint az aktinvázas változásain keresztül mértem fel.

A cilindrospermopszin (0,2-5 μM) és a cilindrospermopszint termelő AQS törzs 3 óra után, míg a mikrocisztin-LR (0,5-50 μM) 24 óra után szignifikáns LDH aktivitás növekedést idézett elő. Az ACT9502-es és ACT9504-es törzssel 3 és 24 órás, az ACT9503-as, ACT9505-ös és az AQS törzssel 3 órás kezelés alkalmával észleltük az LDH aktivitás növekedését.

A mitokondriális dehidrogenázok aktivitása 24 óra elteltével csökkent az AQS, ACT9505, és PCC6506 törzsek hatására, akárcsak mikrocisztin (1-50 μM), és cilindrospermopszin (0,5-10 μM) esetén.

48 óra után a cilindrospermopszin (1 μM) és a mikrocisztin-LR (10 μM) a mikrofilamentáris rendszer disszociációját idézték elő a sejtekben. Az AQS törzs és a négy balatoni cianobaktérium törzs szintén aktinhálózat szerkezetének módosulását okozták 24 óra után.

Az általam vizsgált törzsek a mikrocisztinhez és a cilindrospermopszinhez hasonlóan citotoxikus hatást váltottak ki a CHO-K1 sejteken. Mivel az ACT9502, ACT9503, ACT9504 és ACT9505-ös törzset egy turisztikai szempontból jelentős tóból izolálták, ezen törzsek hatásának pontos felmérése fontos információkat szolgáltathat egy nagyobb méreteket öltő vízvirágzás esetleges következményeiről.

ÖkoTox

**A *Sinapis alba* ökotoxikológiai teszt alkalmazása víz- és
üledékminták vizsgálatára**

Bertók Csanád
Debreceni Egyetem, Biológia BSc szak

Témavezető: Dr. Lakatos Gyula

Az ökotoxikológia egy igen fontos határtudomány. Rendkívül sok tudományterület és tudományág ismerete szükséges ahhoz, hogy effektív vizsgálatokat végezhessünk, a kapott eredmények pedig relevánsak legyenek. Éppen emiatt gyökerei csupán a 20. század második felére nyúlnak vissza, tehát viszonylag új keletű tudomány.

A vizsgálatokat többféleképp oszthatjuk fel. Vannak laboratóriumban és terepen elvégezhető elemzések. A laboratóriumi tesztek között megkülönböztetünk akut és dinamikus teszteket, melyeket tovább oszthatunk statikus és dinamikus részekre. Az akut tesztek expozíciós ideje maximum 72 óra, míg a krónikus vizsgálatoknál ez akár több hónapot is igénybe vehet. A statikus tesztekkel az élőlényeket ugyanabban a mintában tartjuk a vizsgálat teljes egészében, míg a dinamikus vizsgálatnál a mintát a teszt egésze alatt, meghatározott időközönként cseréljük, vagy frissítjük.

Az általunk alkalmazott és a dolgozatban kifejtett ökotoxikológiai teszt a *Sinapis alba* (fehér mustár) magvaival végzett vizsgálat volt. A teszt igen jól alkalmazható olyan esetekben, ahol az adott víz-, illetve üledékminták vízi, vízparti növényekre gyakorolt hatását kívánjuk vizsgálni, mivel a növény nem sorolható a hiperakkumulátor élőlények közé, így a víz közeli flóra jelentős részével hasonlóságot mutat. Előnye továbbá, hogy a gyökerek növekedése statisztikailag jól értékelhető, az eredmények pedig a fentebb említett ok miatt relevánsak.

Az elemzésekhez több hazai és határon túli területről gyűjtöttünk víz- és üledékmintákat. A mintavételek turisztikai, illetve természetvédelmi szempontból kiemelt területeken történtek. A vizsgálat során 9 üledék- és 47 felszíni vízmintával dolgoztunk.

A magokat a mintákkal átitatott szűrőpapírt tartalmazó Petri-csészékbe helyeztük (edényenként 30-30 darabot), majd fénytől elzárt helyre helyeztük őket 72 órára. Az idő leteltével mértük a gyökerek hosszát, majd az eredmények átlagát táblázatos formában összefoglaltuk.

Ezt követően értékeltük a víz- és üledékminták által kifejtett serkentő és gátló hatásokat.

ÖkoTox

**A króm (VI) hatása különböző *Spirodela polyrrhiza* ökotípusok
növekedésére és antocián-felhalmozására**

Combi Zsolt
Debreceni Egyetem, Környezettan BSc szak

Témavezetők: Dr. Mészáros Ilona, Oláh Viktor

A króm (VI), mint az egyik legnagyobb mennyiségben környezetbe kerülő toxikus nehézfém, élő szervezetekre gyakorolt hatásainak feltárása az érdeklődés középpontjába került. Az ökotoxikológiai munkákban a magasabb rendű vízinövények közül legelterjedtebben a békalencse-fajokat alkalmazzák teszt-szervezetként. A békalencse-féléknél, elterjedtségüknek köszönhetően fajon belül is többféle ökotípus alakulhat ki, melyek különböző tulajdonságaikban többé-kevésbé eltérhetnek.

Vizsgálataink során a *S. polyrrhiza* két ökotípusának a króm (VI)-toleranciáját hasonlítottuk össze. A DE TTK Növénytan Tanszéken fenntartott ökotípusok axenikus tenyészeit növekedési tesztekben vizsgáltuk. A két ökotípus különbözik az antocián-felhalmozó képességében.

A dolgozat célja az volt, hogy megvizsgáljuk, a *S. polyrrhiza* fenti két ökotípusa esetében tapasztalható-e különbség a króm (VI) növekedést gátló hatásának az erősségében. További célunk volt az antocián-akkumuláció Cr (VI)-toleranciában játszott esetleges szerepének vizsgálata, illetve az antocián-akkumuláció ökotoxikológiai paraméterként való alkalmazhatóságának tanulmányozása.

Eredményeink alapján a lassabb növekedésű, antociánt nagyobb mértékben felhalmozó, krómterhelt területéről származó kunszentmártoni ökotípus (KSz) a vizsgált króm (VI)-koncentráció-tartományon belül az alacsonyabb koncentrációk esetén kisebb érzékenységet mutatott a króm (VI)-kezelésekkel szemben, mint a gyorsabb növekedésű kis-balatoni ökotípus (KB).

A növények antocián-tartalma mindkét ökotípus esetében jelentősen nőtt a króm (VI)-kezelések hatására. Ezt az emelkedést mind a spektrofotometriás mérések, mind a növények abaxiális felszínéről készült digitális képek elemzése alátámasztotta. Az antocián-felhalmozás mértéke az alkalmazott króm (VI)-koncentrációkkal arányosan emelkedett. Az eredmények egyértelműen mutatják, hogy a faj antocián-akkumulációja a nehézfém-stressz biomarkereként jól felhasználható.

Az antociánok egyik feltételezett funkciója az oxidatív stressz elleni védelem. A növekedési tesztek eredményei és a kétféle ökotípus eltérő antocián-felhalmozó képessége alapján nem zárható ki ez a lehetőség, legalábbis az alacsonyabb króm (VI)-koncentrációk esetében. A nehézfém-tolerancia és az antociánok felhalmozása közti esetleges összefüggések feltárásához azonban további, részletesebb vizsgálatokat kezdünk.

ÖkoTox

Alumínium stressz hatása sörárpa epidermisz morfológiájára

Fábián Hajnalka

Nyugat-magyarországi Egyetem, Biológia szak

Témavezető. Dr. Skribanek Anna

Dolgozatom a Növényteni Tanszék és a Gabonatermesztési Kutató Kht. Táplászentkeresztii Kutató állomása közös kutatási projektjéhez kapcsolódik. Célja, hogy felderítsem az alumínium stressz hatásait a termesztett sörárpára, elsősorban az epidermisz sejtek morfológiai vizsgálatával és mérésével.

A vizsgálatokat laboratóriumi körülmények között 40 fajttal és nemesítési vonallal 10 napos csíranövényeken végeztem. A csíranövények első leveléről 150 $\mu\text{mol AlSO}_4$ oldatot tartalmazó vízkultúrában nevelés után kollóidumos levonatokot készítettem. A levonatokot mikroszkópos fotókon értékeltem képfeldolgozó segédprogram segítségével. Vizsgáltam a sztóma zárósejtek és kísérősejtjeik hosszúságát és szélességét. A kísérleteket különböző, egymást követő években is elvégeztem. Erre azért volt szükség, hogy kiderítsem, hogy a különbségek generációs szinten értelmezhetőek-e.

A fajták között voltak olyanok, melyeknél az Al kezelés hatására az eltérések nem voltak számottevők, de a fajták jelentős részénél kimutatható és szignifikáns volt a változás, azaz a sztóma zárósejtek és kísérősejtek méretei csökkentek.

Az eredmények tehát az epidermisz vizsgálatok szintjén is igazolták, hogy az alumínium, hatással van a növényekre, toxikus a sejtekre, gátolja a gyökér tápanyagfelvételét, ezáltal megakadályozza a korai növekedésben.

Az epidermisz sejtek morfológiai vizsgálata igazolt abban, hogy ezen sejtek alkalmasak arra, hogy toxicitás hatását mutassuk ki rajtuk. A fajták közötti különbségek pedig alkalmasak lehetnek arra is, hogy a fajtanemesítésben, a törzsek, vonalak szelekciójában hasznosíthatók legyenek.

ÖkoTox

Allelokemikáliák vizsgálatára alkalmas csíranövényteszt továbbfejlesztése

Kiss Bernadett
Debreceni Egyetem, Környezettan BSc szak

Témavezető: Dr. Tóth Albert

Dolgozatomban nem őshonos növények allelopatikus hatását vizsgáltam fehér mustár (*Sinapis alba*) tesztnövény felhasználásával, ezek a következők voltak: közönséges dió (*Juglans regia*), fehér akác (*Robinia pseudoacacia*), keskenylevelű ezüstfa (*Elaeagnus angustifolia*), laskatök (*Cucurbita ficifolia*), közönséges paprika (*Capsicum annuum*). Másrészt a közönséges dió (*Juglans regia*) hatását néztem kultúrnövényekre, melyek a következők voltak: fejes saláta (*Lactuca sativa*), len (*Linum usitatissimum*), közönséges búza (*Triticum aestivum*).

A vizsgálatokat a Felföldy-féle teszt módszernek megfelelően végeztem el. Az általam tanulmányozott növények esetében gátló hatást állapítottam meg a fehér akác, a keskenylevelű ezüstfa és a laskatök esetében. A közönséges paprikánál kis mértékben tapasztaltam ezt a jelenséget.

Véleményem szerint a fehér mustármag mellett hasonlóan jól használható tesztnövényként a fejes saláta és a len magjai is.

Általánosságban megállapítható, hogy a 10x-es hígítás során még erőteljes allelopatikus hatás tapasztalható, míg a 100x-os esetben már ez elég csekélynek bizonyult. Így ajánlatos a hígítási sort kibővíteni egy 50x-es, és esetleg még közbeiktatható a 25x-ös és a 75x-ös oldattal is, így pontosabb képet kaphatunk arról, hogy az allelopatikus hatás milyen koncentrációig érvényesül.

Eredményeimet többféleképpen értékeltem ki. Elmondhatom, hogy az 5 legkisebb érték elhagyása nem feltétlenül szükséges a minősítések konstatálásánál, valamint a mediánokat is alapul vehetjük a kvalitási kategóriák megállapításánál.

A jövőbeni terveim között szerepel további allelopatikus növények hatásának vizsgálata, valamint szabadföldi kísérleteket elvégzése.

ÖkoTox

**Természetes eredetű proteinázgátlók hatása Cry1-fogékony és -
rezisztens aszalványmolyon**

Szilágyiné Bánáti Hajnalka

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológia-környezettan szak

Témavezető: Dr. Darvas Béla

A *Bacillus thuringiensis* törzsek rovarlárvák pusztulásához vezető Cry-protoxinokat termelnek. A *B. var kurstaki*-ből fermentált DIPEL Cry1- és Cry2-protoxinokat tartalmaz. A MON 810-es transzgenikus kukorica ~Cry1Ab aktív toxint termel. A protoxinból proteázok hasítanak le egy részt és képződik az aktív toxin. Ugyancsak proteázok végezhetik el a toxinok lebontását.

Az MTA Növényvédelmi Kutatóintézetének Ökotoxikológiai és Környezetanalitikai Osztályán 2001-től MON 810-es levélörlemény felhasználásával Cry1-fogékony (S) törzsből Cry1-rezisztens (R) aszalványmoly (*Plodia interpunctella* Hübner) törzset szelektáltak. Az R keresztrezisztenciát mutat DIPEL-re is. A rezisztencia okainak vizsgálatai közül az egyik a tripszin-inhibitorokra való reakció volt. Ezért a lárvák tápjában lévő zsírtalanított szójalisztet különböző növényörleményekkel helyettesítettük.

A vizsgált örlemények a következők voltak: sárgavirágú csillagfűrt, lóbab, tehénborsó, bab, lucerna, csicseriborsó, vörös lencse, mungóbab, búzasikér, fehér fagyöngy, jackfruit és durian. Négy kísérletsorozatban vizsgáltuk S és R törzseken az aktivitást, amit a kifejlődési idő (embrionális és posztembrionális) hosszában, a hím- valamint nősténybábok súlyában, továbbá a kifejlődött imágók számában mértünk. A kísérletek szignifikáns eredményei összetett következtetések levonására alkalmasak. Tesztet fejlesztettünk ki a növényi örlemények ovipozitáns hatásának kimutatására is. A fehér fagyöngy aszalványmolyra ovipozitáns hatású összetevőt tartalmaz.

Sejtbiológia I. tagozat

Időpont: Április 9. 09:00

Terem: N épület, 301. terem

A zsűri elnöke: **Prof. Kálmán Mihály**, egyetemi tanár
Semmelweis Egyetem, Anatómiai, Szövet és Fejlődéstani
Intézet

tagjai: **Prof. Fekete Éva**, egyetemi tanár
Szegedi Tudományegyetem, Élettani, Szervezettani és
Idegtudományi Tanszék

Dr. Nagy Szabolcs, egyetemi adjunktus
Pannon Egyetem, Limnológia Intézeti Tanszék

09:00	Bakó Fruzsina	DE TTK	A vesetok-parathymicalis nyirokcsomó metastasis modell kidolgozása és vizsgálata
09:20	Fullár Alexandra	ELTE TTK	A decorin szerepe a májban zajló fibrogenézisben
09:40	Haskó János	SZTE TTIK	Melanóma sejtek transzendenteliális migrációjának vizsgálata in vitro vér-agy gát modellen
10:00	Kói Krisztina	ELTE TTK	Biszfoszfonát kezelés hatása humán nem- kissejtes tüdőrák sejtekre
10:20	Pál Ildikó Gabriella	ELTE TTK	Egy általános sejtciklus-modell vizsgálata érzékenységanalízissel
10:40	Szünet		
10:50	Farkas Erzsébet, Laza Diána, Sárvári Anitta	DE TTK	Nehézfémekkel kezelt humán K562 sejtek Long-Term Scanning mikroszkópos vizsgálata
11:10	Szatmári Zsuzsanna	ELTE TTK	Az autofágia szerepe az emlős neuronpusztulásban

SejtBiol_1

**A vesetok-parathymicalis nyirokcsomó metastasis modell
kidolgozása és vizsgálata**

Bakó Fruzsina
Debreceni Egyetem, Biológia BSc szak

Témavezető: Dr. Mária Teréz

Patkány hepatocarcinoma (He/De), illetve mesoblastos nephroma (Ne/De) sejtek F344 patkányok vesetokja alá ültetve áttéteket adnak a parathymicalis nyirokcsomókba.

Tus alkalmazásával bebizonyítottuk, hogy a vesetok nyirokereit és a parathymicalis nyirokcsomók között összeköttetés van. Autoradiográfias és szerv-eloszlásos vizsgálatok ugyancsak azt bizonyították, hogy a parathymicalis nyirokcsomók a vesetok alatt növekedő tumorok „sentinel” nyirokcsomói.

A nyirokcsomók transzplantációjával kimutattuk, hogy a metastasisok egymillió daganatsejt jelenléte esetén a 3-6. napon mutathatók ki, és a metastasis-képző potenciál független a primer tumorok növekedési sebességétől.

A vesetok-parathymicalis nyirokcsomó komplex alkalmasnak tűnik az áttétképződés izolált vizsgálatára *in vivo*, illetve a szekunder tumorok tulajdonságainak alaposabb vizsgálatára.

SejtBiol_1

A decorin szerepe a májban zajló fibrogenézisben

Fullár Alexandra

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Kovalszky Ilona

A máj idült károsodása során a kötőszövetet a máj periszinusoidális csillagsejtjei (HSC, Ito sejtek) termelik és ezek szabályozásában meghatározó szerepet játszik a TGF- β 1. Korábbi vizsgálataink arra utaltak, hogy ebben az eseménysorban a decorin, a TGF- β 1 természetes gátlója fontos szerepet játszik, mivel képes csökkenteni a HSC extracelluláris mátrix (ECM) termelését.

Megfigyeléseink kísérletes bizonyítására modellrendszert hoztunk létre, melyben májból izolált Ito sejteket és miofibroblasztokat kezeltünk decorinnal és TGF- β 1-el külön-külön illetve kombinációban. Célunk az volt, hogy meghatározzuk a kezelést követően a sejtek ECM fehérje termelését mRNS és fehérje szinten egyaránt, illetve bizonyítsuk a két sejt eltérő szerepet tölt be a májfibrózis létrehozásában.

Nöstény Wistar patkányok májából kollagenáz perfúzióval mobilizáltunk sejteket. Az Ito sejteket Nikodenz gradiens mentén, a miofibroblasztokat pedig elutriátorral választottuk el. Az Ito sejteket az izolációt követő 6. napon, a miofibroblasztokat első passzálist követő 2. napon kezeltük 10 ng ml⁻¹ decorinnal, 1 ng ml⁻¹ TGF- β 1-el és a kettő kombinációjával 20-24 órán át. A primer tenyészetekből teljes RNS-t izoláltunk, hogy real-time RT-PCR alkalmazásával meghatározhassuk a kollagén I, III, IV és β -aktin mRNS szintjét. Ugyanezen gének fehérjetermékeit Western blotlal követtük nyomon. A két sejtípus elkülönítéséhez Thy-1 és SMA markereket használtuk.

A csillagsejtekben a vizsgált mátrix fehérjék mennyisége jelentősen fokozódott a TGF- β 1 kezelés hatására, önmagában a decorin csekély növekedést idézett elő. Kombinált kezelésben a TGF- β 1 okozta kollagénszintézis fokozódását a decorin képes volt csökkenteni, míg a miofibroblaszt mátrix termelését a TGF- β 1 nem befolyásolta. Ezeknél a sejteknél a decorin mind önmagában, mind a kombinált kezelésben csökkentette a vizsgált kollagének mRNS szintjét. A Western blot vizsgálatok elsősorban a kollagén I és III esetén Ito sejtekben erősítették meg az RNS szintű eredményeket. A két sejt közötti eltérést jól mutatja, hogy Ito sejtekben a TGF- β 1 hatása a Smad útvonalon érvényesült, a miofibroblaszt esetében elsősorban a MAPK útvonal aktiválódását észleltük. Az immuncitokémiai vizsgálatok bizonyították, hogy a két sejt eltérő kötőszövet termelő sejtpopulációból származik.

SejtBiol_1

Melanóma sejtek transzendenteliális migrációjának vizsgálata *in vitro* vér-agy gát modellen

Haskó János
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Krizbai István, Dr. Rákhely Gábor

Az agyi kapillárisok endotélsejtjeinek kiemelkedő szerepe van a vér-agy gát létrehozásában és ezáltal a központi idegrendszer homeosztázisának biztosításában. A gát funkció ellátásában elsősorban az agyi kapilláris endotélsejtek közötti szoros kapcsolatok és adherens kapcsolatok vesznek részt. Ezen sejtközötti kapcsolatok szabályozó gátként funkcionálnak az ionok, nagyobb molekulák és sejtek paracelluláris átjutásában.

Mivel az agy nem rendelkezik nyirokkeringéssel, a sejtek bejutása a központi idegrendszerbe csak a vérkeringés felől történhet. Fiziológias körülmények között a vér-agy gát megakadályozza a sejt elemek bejutását az agyba. Patológias körülmények (gyulladásos folyamatok, metasztázis képződés) között azonban lehetőség nyílik a vér-agy gáton át történő sejtmigrációra. Ebből a szempontból a legintenzívebben a fehérvérsejtek vándorlását vizsgálták, amelyek transz- vagy paracelluláris úton is képesek átlépni az érfalat. Feltételezhetően az agyi áttétet képző daganatos sejtek is képesek transzendenteliálisan bejutni a központi idegrendszer szöveteibe, ennek mechanizmusa azonban még kevésbé ismert.

Kísérleteink célja az volt, hogy *in vitro* módszerekkel megvizsgáljuk, átjutnak-e a vér-agy gáton a melanóma sejtek, és ha igen, akkor az milyen mechanizmusok útján történik. A kísérleteinket primér patkány agyi endotélsejteken (RBEC) és immortalizált humán agyi endotélsejt tenyészeteken (hCMEC/D3) végeztük, melyek *in vitro* is jól megőrzik a vér-agy gát tulajdonságait. Emellett A2058 melanóma sejtvonalat használtunk kutatásainkhoz. Sejtmigrációs kísérleteink igazolták, hogy a melanóma sejtek átjutnak az endotél sejtrétegen. Irodalmi adatok alapján feltételeztük, hogy proteolitikus folyamatok szerepet játszanak a vándorlásban. Ezért következő vizsgálataink során egy mátrix metalloproteináz (MMP) gátlószer (GM6001) melanómasejtek transzendenteliális migrációjára kifejtett hatását követtük. Az inhibitorral kezelt sejtenyészetben 32%-kal csökkent a vér-agy gáton átjutó melanómasejtek száma.

Az áttétben résztvevő mátrix metalloproteinázok kimutatására zselatin zimográfiás módszert alkalmaztunk. Vizsgálataink során kimutattuk, hogy a melanómasejtet és endotélsejtet is tartalmazó kokultúrák tápfolyadékában a metalloproteinázok aktivitása nagyobb, mint a csak melanómasejtet vagy endotélsejtet tartalmazó sejtenyészetben. Molekulasúlyuk alapján feltételezzük, hogy elsősorban az MMP-2 és MMP-9 aktivitása növekedett.

Eredményeink arra engednek következtetni, hogy a mátrix metalloproteinázoknak jelentős szerepe van a melanómasejtek vér-agy gáton való átjutásában, ezáltal agyi melanóma áttét kialakulásában.

SejtBiol_1

Biszfoszfónát kezelés hatása humán nem-kissejtes tüdőrák sejtekre

Kői Krisztina

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Tóvári József, Dr. Kenessey István

A biszfoszfónát gyógyszereket a klinikai gyakorlatban rosszindulatú daganatos betegségekben a csontáttétképződés megelőzésére használják. Újabb kutatások szerint a nitrogéntartalmú biszfoszfónátokat sikerrel lehetne alkalmazni általános antitumoros szerként, mivel gátolják a kis G-fehérjék (Ras, Rac, Rho) poszttranszlációs modifikációját, amely megakadályozza a fehérjék sejthártyához való kihorgonyzását, ezáltal a szignáltranzdukciót. Ennek eredménye a proliferáció, valamint a migráció gátlásában mutatkozik meg.

Kísérletes munkánk során mutáns, illetve vad típusú Ras-molekulát expresszáló humán nem-kissejtes tüdőrák (NSCLC) sejtvonalakon (LCLC-103H, H358, H1650, H1975) vizsgáltuk a zoledronsav (Zometa) hatását. Proliferáció tekintetében a Ras-mutáns H358 sejtvonal relatív zoledronsav-rezisztenciát mutatott a vad típusokhoz képest. A zoledronsav az összes vizsgált sejtvonal esetében, Ras-státusztól függetlenül, migrációt gátló szernek bizonyult. Az *in vitro* legérzékenyebb LCLC-103H nagysejtes tüdőrák vonalon *in vivo* állatkísérletes modell segítségével vizsgáltuk a zoledronsav terápiás hatását.

Ezen preklinikai vizsgálatok felvetik a biszfoszfónátok malignus betegségek terápiájában való szélesebbkörű klinikai alkalmazásának lehetőségét.

SejtBiol_1

Egy általános sejtciklus-modell vizsgálata érzékenységanalízissel

Pál Ildikó Gabriella

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Zsély István Gyula, Dr. Turányi Tamás

A sejtek osztódása nagyon bonyolult folyamat, amelyet számos biokémia reakció egymásra hatása szab meg. A sejtosztódás mechanizmusa csak dinamikus modellek alapján érthető meg. Csikász-Nagy Attila és munkatársai létrehoztak egy általános sejtciklus modellt, amely egyszerre több élőlény sejtciklusának viselkedését képes leírni úgy, hogy az egyes élőlények esetén a modell differenciál-algebrai egyenletrendszere azonos, csak a paraméterek értékei térnek el.

Először a paraméterek egyenkénti megváltoztatását vizsgáltuk és kijelöltük azokat a határokat, amikor a modell még élő, osztódó sejtet ír le. Ezek után valamennyi paramétert egyszerre változtattunk ezen határok között és meghatároztuk az élő sejteket leíró paraméterkészleteket. Elvégeztük ezeknek a paramétereknek a korreláció analízisét és így paraméterpárokat választottunk ki további vizsgálatra. Ezen paraméterpárok értékét együttesen változtattuk és megvizsgáltuk, hogy a kapott modell élő sejtet ír-e le.

Elvégeztük a modell lokális érzékenységanalízisét is mindhárom élőlényhez tartozó paraméterkészlet esetén. Megállapítható volt, hogy az érzékenységi függvények nem periodikusak, hanem a szélső értékek egyre növekednek. A BME Matematikai Intézete munkatársai ezeket a függvényeket együttműködésünk keretében periodikus alakra alakították át. Ezeknek a periodikus függvényeknek az alakját klaszteranalízissel vizsgáltuk meg. Megállapítottuk, hogy a sarjadzó élesztő és a hasadó élesztő esetén az érzékenységi függvények két nagy hasonlósági csoportra oszthatók, míg az emlőssejtek esetén minden érzékenységi függvény globálisan hasonló. Megmutattuk, hogy ha két érzékenységi függvény globálisan hasonló, akkor ezek kompenzálni képesek egymás hatását, tehát az egyik megváltoztatása okozta koncentráció-idő függvény változásokat a másik paraméter megfelelő változtatása visszaállítja.

A dolgozatban először mutattuk ki, hogy sejtosztódást leíró differenciálegyenlet-rendszer többfajta élőlényhez tartozó paraméterkészlet esetén is olyan tulajdonságú, amely a sejtciklus robusztusságát megmagyarázza a lokális érzékenységi függvények hasonlóságának elmélete alapján.

SejtBiol_1

**Nehézfémekkel kezelt humán K562 sejtek Long-Term Scanning
mikroszkópos vizsgálata**

*Farkas Erzsébet, Laza Diána, Sárvári Anitta
Debreceni Egyetem, Biológus szak*

Témavezetők: Dr. Bánfalvi Gáspár, Ujvárosi Kinga

A mindennapos életben, nagy mennyiségben érintkezhetünk nehézfémekkel, dolgozatunkban a három leginkább elterjedt mérgező nehézfémek (higany, nikkel, ólom) által kiváltott hatást vizsgáltuk Long-Term Scanning módszer segítségével. A módszer egyedülállóságának köszönhető, hogy egyedi sejteket ideális környezetben, korlátlan ideig tudunk vizsgálni (37°C, 5%-os CO₂-tartalom). A rendszer lehetőséget ad arra, hogy a sejteket hosszú ideig (akár 1 hétig is) megfigyeljük.

Dolgozatunk célja, kísérletes adatok szolgáltatása annak eldöntésére, hogy a különböző nehézfémek a K562 sejtekre gyakorolt azonos vagy eltérő citotoxikus hatással bírnak. A citotoxikus hatást a sejt osztódásának szintjén követjük egyedi sejteken mikroszkópos felvételek (percenként 1 felvétel) segítségével kezeletlen és kezelt sejt kultúrában. A sejtek viselkedésének nehézfémek által kiváltott változását, a celluláris etológiát, a tanszéken létrehozott Long-Term Scanning rendszer segítségével a mikroszkópos felvételekből készült videófilmek elemzésével valósítottuk meg.

További kutatásaink között szerepel ezeknek a hatásmechanizmusoknak a részletesebb vizsgálata, a Mikrobiális Biotechnológiai és Sejtbiológiai Tanszéken fejlesztés alatt álló módszerekkel.

SejtBiol_1

Az autofágia szerepe az emlős neuronpusztulásban

Szátmári Zsuzsanna

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Sass Miklós

Az autofágia (a sejtek önemésztése) feladata a hibás, működésképtelen organelumok és makromolekulák izolálása, lebontása. A folyamat a stresszhatásokkal szembeni védekezés egyik alapvető mechanizmusa. Ugyanakkor az autofágia a morfogenezis során bekövetkező célzott és szabályozott sejtpusztulásokban és a patológias sejtvesztésekben is fontos szerepet játszik.

A cerebrovasculáris stroke patkányokon történő vizsgálatának jól ismert modellje, az ún. négycsatornás elzárás (four-vessels occlusion). A két arteria vertebrális és két arteria carotis communis 10 percig történő elszorítása agyi hypoxiához vezet. Ez a kezelés kiterjedt neuronpusztulást okoz. Vizsgálatok kimutatták, hogy egy rövidebb időtartamú (4 perc) elzárás 72 órával az ischemiás kezelés előtt kivédi a hypoxia káros hatásait, és így kevesebb neuron pusztul el. Ennek megfelelően feltételeztük, hogy ha az ischemiás kezelésben részesült állatokban tapasztalunk erőteljesebb autofág aktivitást, akkor az autofágia a sejtpusztulásért lehet felelős, míg ha a prekondicionált állatokban fokozódik az autofág gének expressziója, a folyamat a citoprotekcióval hozható összefüggésbe.

Munkánk során tehát azt vizsgáltuk, hogy a cerebrovasculáris stroke ezen állatmodelljében három ismert autofágia gén (Atg5, Beclin1, LC3) fehérjeterméke kimutatható-e a kontroll állatokban, azaz létezik-e egy alapszinten zajló (ún. housekeeping) autofágia, illetve, hogy ezen fehérjék expressziója változik-e a hypoxiás shock és/vagy a prekondicionálás után.

Fénymikroszkópos immunhisztokémiai vizsgálataink igazolják, hogy a géntermékek a neuronok perinuclearis areáiban struktúrához kötötten lokalizálhatók. A vizsgált fehérjék pontos intracelluláris lokalizációjára a jelenleg már folyó elektronmikroszkópos vizsgálataink fognak fényt deríteni. A kontroll állatokban is kimutattuk az autofág fehérjék jelenlétét. Ez azt jelenti, hogy a neuronokban is működik egy alapszintű, „housekeeping” autofágia. Meghatároztuk a vizsgált fehérjéket tartalmazó sejtek denzitását az agy funkcionálisan elkülöníthető területein. Azt tapasztaltuk, hogy ezek eloszlása a három csoportban (kontroll, ischemiás, prekondicionált) lényegesen eltér egymástól. Általánosságban elmondható, hogy az ischemiás kezelés hatására nem változik jelentősen ezen fehérjék expressziója, a prekondicionált állatokban viszont nagy mértékben megnő a mennyiségük. Mindezek alapján úgy gondoljuk, hogy ebben a rendszerben az autofágia inkább a citoprotekcióval, mintsem a sejtpusztulással hozható kapcsolatba.

Reményeink szerint az eredményeink hozzájárulhatnak ahhoz, hogy az autofág gének termékei gyógyszer-célpontokká válhatnak a neuronvesztéssel és más, sejtvesztéssel járó kórképek kezelésében.

Sejtbiológia II. tagozat

Időpont: Április 9. 15:00

Terem: O épület, 11. terem

A zsűri elnöke: **Dr. Krizbai István**, tudományos főmunkatárs
MTA Szegedi Biológiai Központ, Biofizikai Intézet

tagjai: **Dr. Paku Sándor**, tudományos főmunkatárs
Simmelweis Egyetem, I. Sz. Patológiai és Kísérleti
Rákkutató Intézet

Dr. Serfőző Zoltán, tudományos segédmunkatárs
MTA Balatoni Limnológiai Kutatóintézet

15:00	Buza Ágnes Kinga	SZTE TTIK	Sejtfal-rendezettség vizsgálatok differenciál-polarizációs lézerpasztázó mikroszkóppal
15:20	Horváth Attila	DE TTK	Sejtmagreceptorok és ACTR koaktivátorok <i>in vivo</i> vizsgálata
15:40	Maruzs Tamás, Lőrincz Péter	ELTE TTK	Új pont az autofágia térképén - myoblast city (mbc)
16:00	Miskó András, Tóth Katalin	NYME TTK	A proteoglikán syndecan-4 foszforiláltsága befolyásolja a cytokinezist
16:20	Nagy Péter	ELTE TTK	Diétázzon, tovább élhet - a sejt is!
16:40	Szünet		
16:50	Sági Bernadett	ELTE TTK	Mesoangioblastok, mesenchymalis őssejtek vagy perivascularis simaizom sejtek
17:10	Walter Fruzsina	SZTE TTIK	A tesmilifene, egy tamoxifen- származék kemopotenciózó szer, hatása agyi endotélsejtekre

SejtBiol_2

Sejtfal-rendezettség vizsgálatok differenciál-polarizációs lézerpásztázó mikroszkóppal

Buza Ágnes Kinga
Szegedi Tudományegyetem, Biofizikus szak

Témavezetők: Dr. Tandori Júlia, Steinbach Gábor

A fluoreszcens mikroszkópia széles körben elterjedt, jól ismert kutatási technika. Lehetőség adódik a fluoreszcens leképezéssel nyert adatok kibővítésére, ugyanis az anyag polarizált fényrel történő kölcsönhatása nem jellemezhető kizárólag az abszorpcióval: a fényelnyelést ill. fénykibocsátást leíró Mueller-mátrix 16 elemű. Ezek a mennyiségek további információkat szolgáltatnak a minta molekuláris szerkezetéről és rendezettségéről. A lézerpásztázó mikroszkóphoz kapcsolt, az SZBK Növénybiológiai Intézetében kifejlesztett differenciálpolarizációs feltét alkalmas a polarizációs paraméterek 3D leképezésére.

A mérési eredmények értelmezéséhez elengedhetetlen, hogy tisztában legyünk a fénypolarizáció jelenségének fizikai hátterével. Ennek megfelelően a fluoreszcencia bemutatása után részletesen kitérek arra, hogy mit jelent a hullámpolarizáció; illetve, hogyan valósul meg elektromágneses hullám esetében, milyen típusai képzelhetők el, milyen kölcsönhatások valósulnak meg az anyag és a polarizált fény között.

Az általam használt fluoreszcens festék, a Congo red jó hatásfokkal köt a növényi sejtek falához, s orientációjában is megtartja cellulóz-szálak irányát – állandó interkalálódási szög mellett. A festékmolekula helyzete, rendezettsége megfeleltethető a sejtfalat alkotó molekulák helyzetének és rendezettségének.

Méréseimet az MTA Szegedi Biológia Központ Növénybiológiai Intézetének DP-LSM laboratóriumában végeztem, steril rizs szuszpenzió. A kontroll szuszpenziót magam tartom fenn, a stressz-adaptált kultúrát a Sejtosztódási és Stressz Adaptációs csoport bocsátotta rendelkezésemre.

Először három sejt szuszpenziót hasonlítottam össze: egy kontrollt, egy só-stresszhez adaptáltat és egy, a három napos stressznek kitett kultúrát. Ez utóbbi azt jelenti, hogy a kultúra nem volt képes adaptálódni a nagy dózishoz. Ezen sejtek sejtfalának rendezettségében nem találtunk szignifikáns különbséget, de segítettek felderíteni a mérés lehetséges hibaforrásait, illetve egyéb technikai jellegű tudással gyarapodtunk. A mérés további szakaszában újabb három szuszpenzió került összehasonlításra. Az első itt is egy kontroll, a második egy aldehid stresszhez adaptált, a harmadik pedig szintén a mérés előtt három nappal stressznek kitett csoport volt. Azt találtuk, hogy míg a kontroll és a vizsgálat előtt pár nappal stresszelt sejtek sejtfalának rendezettsége között nincs szignifikáns különbség, addig az adaptált sejteken mért fluoreszcencia-detektált lineáris dikroizmus értékek elkülönülnek.

Ezen megváltozás molekuláris okainak feltárása további vizsgálatokat igényel, illetve tervezek mérni ozmotikus stressznek kitett szuszpenzió, valamint enzimmel emésztett sejtfalú növényeken.

SejtBiol_2

Sejtmagreceptorok és ACTR koaktivátorok *in vivo* vizsgálata

Horváth Attila

Debreceni Egyetem, Molekuláris biológus szak

Témavezető: Dr. Vámosi György

A sejtmagreceptorok a fehérjeszintézis transzkripciós szinten történő szabályozásában töltenek be kulcsszerepet. Specifikus válaszadó elemekhez kapcsolódva, ligandfüggő módon szabályozzák a célgénjeik átíródását. A magreceptorok alapállapotban korepresszor, ligand hatására koaktivátor fehérjekomplexhez kapcsolódnak.

Célunk a receptorműködés molekuláris lépéseinek tanulmányozása fluoreszcens fehérjék és modern biofizikai technikák felhasználásával egyedi sejtek szintjén, egyedi molekula érzékenységgel.

A létrehozott teljes hosszúságú GFP-RXR receptor és mCherry-ACTR koaktivátor interakciós domén diffúzióját vizsgáltuk fluoreszcencia korrelációs spektroszkópiával. A módszer lényege, hogy a fókuszált lézernyaláb által megvilágított szubfemtoliteres térfogatból származó fluoreszcencia intenzitást detektáljuk, melynek ingadozása függ a diffúzió sebességétől. A módszerrel meghatározható a molekulák mobilitása, koncentrációja, és megbecsülhető a molekulatömege is.

Méréseinket HeLa sejtvonalak sejtmagjában végeztük. A receptorok két eltérő diffúziós idejű komponenset alkotnak, melyek a molekula szabad, illetve kötött állapotának felelhetnek meg. Ezek aránya ligandkezelés hatására szignifikáns változást mutatott. További célunk megvizsgálni a komplexben lévő molekulák egymáshoz képesti elhelyezkedését fluoreszcens rezonancia energia transzfert, illetve keresztkorrelációs spektroszkópia segítségével.

SejtBiol_2

Új pont az autofágia térképén - myoblast city (mbc)

*Maruzs Tamás, Lőrincz Péter
Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak*

Témavezető: Dr. Csikós György

Az autofágia az eukarióták körében általánosan előforduló sejtbiológiai folyamat, melynek során a sejtek citoplazmájuk egy részét izoláló membránba csomagolják, majd lebontják. Az autofágia mechanizmusa és az abban szereplő gének erősen konzerváltak, így vizsgálatához modellszervezeteket használhatunk. Az autofág folyamatok részleteit *Drosophila melanogaster*-ben eddig főleg funkcióvesztéses mutációk segítségével térképezték fel, mi azonban új megközelítést alkalmazva, funkcionyeréses mutánsok keresésével, illetve azok további vizsgálatával foglalkoztunk.

Munkánk kiindulópontját egy transzgén *Drosophila* törzsgyűjtemény képezte, melynek minden vonala egy DEP-elem nevű módosított transzpozont hordozott genomja valamely pontján. A DEP-elem (Double Enhancer P-element) két végén ellentétes orientációjú UAS-ek találhatóak, melyek a Gal4 transzkripciósz faktort kövve képesek a velük szomszédos gének expresszióját fokozni. Alapkonceptiónk az volt, hogy amennyiben egy DEP-elemet hordozó állatban a Gal4 fehérje segítségével a fiziológiásnál jóval korábban sikerül autofág folyamatokat kiváltanunk, akkor a transzpozonnal szomszédos gének közül legalább az egyik autofágiát indukál.

Az általunk megvizsgált 45 törzs közül 3 esetében tapasztaltuk az autofágia korai indukcióját. A DEP-elem inszerciós helyét inverz PCR-rel meghatározva olyan géneket azonosítottunk, amelyek szerepe az autofágiában eddig ismeretlen volt. A 886d vonalban a DEP-elem a Nup98 és az mbc gének között található, mindkét géntől upstream pozícióban, azaz Gal4 fehérje jelenlétében mindkét gén overexpressziója bekövetkezhet.

A 886d vonalból többlépcsős keresztezés segítségével olyan törzseket állítottunk elő, melyekben ezek a gének egymástól függetlenül aktiválhatók. Ennek során a DEP-elemből a gének meghajtásáért felelős UAS-eket külön-külön eltávolítottuk, ennek megtörténtét PCR-rel igazoltuk. A fenotípus újbóli vizsgálatával bizonyítottuk, hogy egyedül az mbc gén overexpressziója a felelős az autofágia indukációjáért. RT PCR-rel igazoltuk, hogy Gal4 jelenlétében valóban fokozódik az mbc expressziója.

További két független törzs vizsgálatával is megerősítettük az mbc gén overexpressziójának autofágia indukáló szerepét. Ezek közül az egyik egy általunk előállított, lokalizációs vizsgálatokra is alkalmas transzgén törzs, amelynek segítségével bizonyítottuk, hogy az indukált autofág folyamatok nem az overexpresszió során felszaporodott Mbc fehérje eltávolítására irányulnak.

Az autofágia defektusa az élethossz csökkenésével jár, amely a sejtekben felhalmozódó káros fehérjék hatására vezethető vissza. Ezzel összhangban, kísérleti eredményeink szerint az mbc folyamatos overexpressziójával indukált autofágia az élethossz növekedését okozza.

SejtBiol_2

A proteoglikán syndecan-4 foszforiláltsága befolyásolja a cytokinezist

Miskó András, Tóth Katalin
Nyugat-magyarországi Egyetem, Biológia BSc szak

Témavezető: Dr. Szilák László

Az élet sajátja a sejtosztódás. A folyamat ciklikus, melyet több szakaszra oszthatunk. A G1 felkészülési fázis után, az S-fázisban lezajlik a DNS szintézis, majd egy újabb előkészítő G2 periódus után, a mitózisban megtörténik az ikerkromoszomák szegregálódása, az új sejtmagok kialakulása és végezetül a cytokinezis, amelyben végérvényesen szétválnak a sejtek. A cytokinezist megelőzően kialakul egy osztódási barázda, ami egyre szűkülve, ún. sejtközi hidat (intercelluláris bridge) formál a középtesttel (midbody), amely mellett a vágódás történik.

Habár sok fehérjét azonosítottak az intercelluláris hídokban, úgy szerkezeti fehérjéket, mint enzimeket, mindaddig keveset lehet tudni a híd szerkezetéről, és az abszcisszió mechanizmusáról. Jelen munkánkban megvizsgáltunk egy olyan transzmembránfehérjét, - a syndecan-4-et - amely bizonyítottan részt vesz a sejt - és mátrix kapcsolat kialakításában. Elemeztük, hogy a syndecan-4 komponense-e az intercelluláris hídnak, és, ha igen, befolyásolja-e a cytokinezist.

A syndecanok négytagú transzmembrán proteoglikán családot alkotnak. A syndecan-4 direkt módon vesz részt a szignál átvitelbe a protein kináz C alfa (PKC alfa) aktiválásán keresztül. Ez a kölcsönhatáson alapuló aktiválás a Ser179 aminosav foszforilációján keresztül szabályozódik; a foszforilált syndecan-4 nem képes aktiválni.

Megvizsgáltuk, hogy ennek a szabályozó szerinnek a foszforilációja befolyásolja-e a syndecan-4 aktív részvételét az intercelluláris hídokban. A foszfo-szerint glutaminsavval utánoztuk, illetve a nem foszforilált formát alaninnal. A vektorokat MCF-7 humán emlő adenocarcinoma sejtvonalba transzfektáltuk és vizsgáltuk a két fehérje lokalizációját. Azért, hogy in vivo nyomon követhetővé tegyük fehérjénket, GFP-vel fuzionáltattuk.

Eredményként azt kaptuk, hogy az anti-alfa-tubulinnal kifestett hídokban és a középtestben csak a glutaminsavat hordozó mutáns volt megtalálható, míg az alaninos mutáns egyáltalán nem volt jelen.

Mindkét mutánsunk fenotípusos megjelenést is hordozott. Normál esetben, a vad típusú syndecan-4-et szintetizáló sejtek, szorosan egymás mellé rendeződve, epithel jellegű szövetet alakítanak ki. Ezzel szemben az alaninos mutánsnál ritkán ugyan, de sokmagvú, óriás sejtek keletkeztek, míg glutaminsavas mutánsnál a híd elvágódása sokszor elmaradt, kialakítva ezzel egy meghosszabbodott híddal összekötött sejt hálózatot, idegsejt-szerű meghosszabbodásokkal.

Felfedezzük tehát, hogy a syndecan-4, amely eleve kapcsolatot létesít a sejtet körülvevő mátrixsal, foszforilációtól függően megjelenik a hídokban, és befolyásolja a cytokinezist. Azt valószínűsítjük, hogy a syndecan-4 a kismolsúlyú Rho-GTPázok aktivitását befolyásolva fejti ki hatását.

SejtBiol_2

Diétázzon, tovább élhet - a sejt is!

Nagy Péter

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Lippai Mónika

Az autofágia, a sejtek önmészése, valamennyi eukarióta sejtre jellemző folyamat, amely az organelumok és makromolekulák lebontásában és turnoverében vesz részt. Fontos szerepet játszik a stresszhatások kivédésében, az egyedfejlődés szabályos végbemenetelésében, az élethossz szabályozásában. Kapcsolatba hozható neurodegeneratív betegségek kialakulásával, a tumorszuppresszióval, a fertőzésekkel szembeni védekezéssel is.

Az ecetmuslicában (*Drosophila melanogaster*) ez a folyamat jól tanulmányozható, mert a lárvális sejtek és szövetek lebontása során szigorúan szabályozott autofágia zajlik.

A *Drosophila* snf4 γ gén hibája gátolja az autofágiát és lárvakori letalitást okoz. Az SNF4 γ fehérje az AMP-aktivált protein kináz (AMPK) heterotrimer komplex szabályozó funkciójú γ alegysége. Munkám során az autofágia és a sejt „energiaszenzoraként” működő AMPK közötti kapcsolatot vizsgáltam.

Az snf4 γ génről legalább 12-féle mRNS keletkezhet. Én az egyik olyan géntermékkel kezdtem foglalkozni, amelyet a gén meghibásodását okozó mutáció nagy valószínűséggel érintett. Eredményeim alapján elmondható, hogy:

1. Az ép cDNS kifejeztetése a mutánsokban helyreállította a vad fenotípust.
2. A cDNS expressziós mintázata mutánsokban különbözik a vadtypustól: szintje jelentősen csökken a mutáció következtében.
3. RNS interferencia klonális indukciója az érintett zsírtest-sejtekben gátolta az autofágiát.
4. A létrehozott GFP-kapcsolt cDNS-ről expresszálandó fúziós fehérje a különböző fejlődési stádiumokban eltérő lokalizációt mutat a vad és a mutáns muslica lárvális zsírtestében.
5. Az AMPK komplex aktív α -alegységének lokalizációja szintén eltér a vad és mutáns törzsekben.

Vizsgálataim alapján úgy tűnik, hogy az snf4 γ gén (vagyis az AMPK) fontos szerepet játszik mind a stressz-indukálta, mind a fejlődési autofágia folyamatában. Az α - és γ -alegységek lokalizációjának vizsgálata alapján valószínű, hogy az AMPK nem csupán egy - az irodalomból ismert - citoszolikus jelátviteli rendszeren keresztül szabályozhatja az autofágiát, hanem fontos funkciója lehet a sejtmagban is.

SejtBiol_2

**Mesoangioblastok, mesenchymalis őssejtek vagy perivasculáris
simaizom sejtek**

Sági Bernadett

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Uher Ferenc

A mesenchymalis ősz, - vagy stroma sejtek (MSC-k) minden szövetünkben megtalálható, *in vitro* kultúrában jól tenyészthető, multipotens sejtek. Felvetődött, hogy az MSC-k valójában az erek perivasculáris rétegében elhelyezkedő pericytákkal és/vagy simaizom sejtekkel azonosak. Feltételezik, hogy a véredényekhez asszociált őssejtek a többi szövetben található MSC-knél fiatalabb, nagyobb osztódási és differenciálódási képességgel rendelkező sejtek, ún. mesoangioblastok, amelyek akár még vérképző sejtekké is képesek differenciálódni.

Jelen munkánkban azt szeretnénk volna tisztázni, hogy fiatal (14 napos) egerek különböző szerveiből (aorta, csontvelő, thymus, lép) származó adherens sejtek

(i) valóban rendelkeznek-e a pericytákra, illetve perivasculáris simaizom sejtekre jellemző markerekkel;

(ii) az aorta falból izolált MSC-k valóban a többi stroma sejténél fiatalabb, esetleg még vérképző sejt irányba is differenciálódni képes sejtek, azaz mesoangioblastok-e; és

(iii) az aorta fali MSC-k rendelkeznek-e olyan sajátosságokkal, ami „származási” helyükre (érfal) utal, illetve különösen alkalmassá teheti őket érbetegségek gyógyítására.

Megállapítottuk, hogy a csontvelőből, a thymusból és a lépből izolált adherens sejtek - az aorta fali MSC-khez hasonlóan - hordoznak pericyta/perivasculáris simaizomsejt markereket (alfa-simaizom aktint és NG2-t). Így valóban elképzelhető, de nem igazolható egyértelműen, hogy ezek a különböző szövetekből izolált stroma sejtek egyetlen sejtfejlődési sorba tartoznak. Ugyanakkor a csontvelői, thymus és lép eredetű MSC-khez viszonyítva jóval gyorsabban növekedő aorta fali MSC-k sem képesek vérképző sejtek irányába differenciálódni. Lágy gélben nem képeznek kolóniákat, Dexter-kultúrában frissen izolált csontvelői sejtekkel együtt tenyésztve őket nem differenciálódnak CD45R, CD11b, vagy Gr-1 pozitív sejtekké. D3 vitamin jelenlétében nem képeznek osteoclastokat. Egésztést besugárzásnak (9 Gy) kitett egerek vérképző rendszerét 10^6 intravénásan adott aorta eredetű sejt sem képes helyreállítani. A H5V endothelioma sejtek növekedését viszont csontvelői és lép eredetű társaiknál hatékonyabban lassítják, sőt kollagén I gélben elindítják a H5V sejtek rendeződését.

Kétségtelen tehát, hogy (i) a különböző MSC-k - legalábbis részben - alkalmazkodtak ahhoz a speciális szöveti környezethez, amelyből izoláltuk őket; (ii) így - legalábbis részben - jogos lehet az aortából származó MSC-ket megkülönböztető névvel mesoangioblastoknak nevezni, annak ellenére, hogy vérképző sejtek irányába nem képesek differenciálódni. Mindezek alapján feltételezzük, és később *in vivo* kísérletekben is szeretnénk igazolni, hogy az aorta eredetű MSC-k különösen alkalmasak lehetnek különböző érbetegségek kezelésére.

SejtBiol_2

**A tesmilifene, egy tamoxifen-származék kemopotenciózó szer,
hatása agyi endotélsejtekre**

Walter Fruzsina
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Deli Mária, Dr. Varga Csaba

A tesmilifene, egy tamoxifen származék (N,N-dietil-2-[4-(fenilmetil)-fenoxi]-etánamin) fokozza a kemoterápiás szerek daganatellenes hatását mind kísérletes, mind klinikai vizsgálatokban. Tesmilifene kezelés során átmeneti, akut központi idegrendszeri mellékhatásokat figyeltek meg, amelyek vér-agy gát megnyílásra utaltak. Korábbi kísérletek kimutatták, hogy a tesmilifene fokozza patkányban a vér-agy gát áteresztőképességét.

Célunk ezért az volt, hogy megvizsgáljuk a tesmilifene közvetlen hatását a vér-agy gát *in vitro* modelljén, agyi endotélsejt és asztrogliá kokultúrákon. Rövid ideig tartó tesmilifene kezelés csökkentette az agyi endotélsejt rétegek ellenállását, fokozta a nagy molekulatömegű albumin sejten keresztüli átjutását. Az endotélsejtek folyékony fázisú endocitózisa, amit a Lucifer sárga festék felvételével mértünk, dózis-függő módon lecsökkent tesmilifene hatására. Tesmilifene kezelés gátolta mind a bazális, mind a hisztamin-indukálta nitrogén monoxid felszabadulást agyi endotélsejtekből.

A vér-agy gát egyik legfontosabb efflux pumpájának, a P-glikoproteinnek működését a tesmilifene nem változtatta meg, míg a multidrog rezisztencia-asszociált protein-1 pumpa aktivitását csökkentette. Hosszantartó tesmilifene kezelés dózis-függő módon csökkentette az agyi endotélsejtek életképességét, amit a tetrazólium festék MTT redukciójával és a sejtekből felszabaduló laktát dehidrogenáz mennyiségével mértünk. Ezt a toxikus hatást igazoltuk a bis-benzimid és etidium homodimer-1 festékekkel végzett kettős magfestéssel is.

Összefoglalva, a tesmilifene *in vitro* modellen vizsgálva számos vér-agy gát funkciót befolyásolt: csökkentette az agyi endotélsejt rétegek barrier integritását, gátolta az MRP-1 efflux pumpa aktivitását, csökkentette az endotélsejtekben a vazoaktív mediátor NO termelődését, és a terápiás szintet jóval meghaladó koncentrációban az endotélsejtekre toxikus hatást fejtett ki.

Adataink kiegészítik a korábbi klinikai megfigyeléseket és állatkísérletes adatokat, és alátámasztják, hogy a tesmilifene közvetlenül az agyi endotélsejtekre kifejtett hatásán keresztül növeli a vér-agy gát permeabilitását. Ha további kísérletekben sikerül igazolni, hogy a tesmilifene jelenlétében jobban bejuthatnak a vér-agy gáton keresztül terápiás vegyületek az agyszövetbe, új lehetőséget tárhatunk fel agydaganatok és más idegrendszeri betegségek kezelésében.

Taxonómia, populációbiológia tagozat

Időpont: Április 8. 15:00

Terem: M épület, 1. terem

A zsűri elnöke: **Dr. Merkl Ottó**, főmuzeológus
Magyar Természettudományi Múzeum, Állattár

tagjai: **Dr. Molnár V. Attila**, egyetemi adjunktus
Debreceni Egyetem, Növénytani Tanszék

Dr. Péntes Zsolt, egyetemi docens
Szegedi Tudományegyetem, Ökológiai Tanszék

15:00	Horváth Csaba	PTE TTK	A nádirigó (<i>Acrocephalus arundinaceus</i> L. 1758) költő populációinak filogeográfiája mt DNS kontroll-régió alapján
15:20	Lendvay Bertalan	ELTE TTK	A jégkorszaki maradvány magyarföldi husáng diszperz populációinak összehasonlítása
15:40	Lengyel Szabina	BCE KTK	Honos és kultúr borostyánok jellemzése citológiai módszerekkel és molekuláris markerekkel
16:00	Mátrai Eszter	SZIE ÁOTK	A tigris (<i>Panthera tigris</i>) alfajok molekuláris taxonómiája
16:20	Merényi Zsolt, Tamaskó Gabriella	ELTE TTK	A Kárpát – Pannon régió kis fehér <i>Tuber</i> -einek taxonómiai revíziója
16:40	Szünet		
16:50	Mészáros István, Götzer Katalin	PTE TTK	Tarsza fajok (<i>Isophya</i> , Orthoptera) molekuláris evolúciós vizsgálata
17:10	Mikós Éva	DE TTK	Morfológiai variabilitás a <i>Melitaea telona</i> kovacsi és <i>Melitaea phoebe</i> hazai populációiban
17:30	Rigó Krisztina	SZIE ÁOTK	Gyíkfajok szerepe a kullancsok és az általuk terjesztett spirochéták fenntartásában
17:50	Ujvári Zsolt	ELTE TTK	Faunisztikai és taxonómiai vizsgálatok a Kárpát-medence Zerconidae (Acari: Mesostigmata) fajain

TaxonPopBiol

**A nádirigó (*Acrocephalus arundinaceus* L. 1758) költő
populációinak filogeográfiája mt DNS kontroll-régió alapján**

Horváth Csaba
Pécsi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Hoffmann Gyula, Dr. Mátics Róbert

A nádirigó szezonális, hosszú távú vonuló madárfaj, a Nyugat-Palearktisz költő madara. Teledőterületei Afrika több régiójában is megtalálhatóak. A mitochondriális DNS-ének a D-loop a leghosszabb nem kódoló szakasza, mely különböző pozícióiban polimorfizmusokat mutat.

Munkánk során közép-kelet európai és hazai nádirigó populációkat vizsgáltunk az mtDNS kontroll-régió (D-loop) 492 bázispár hosszúságú része alapján. Célunk a közép-európai nádirigó populációk genetikai diverzitásának elemzése volt.

Kutatásaink során 4 közép-európai populációt vizsgáltunk, a magyar állományt pedig részletesebb elemzésnek vetettük alá, hazánkban 8 gyűjtőhelyről vettünk mintákat. A begyűjtött vérből kivont mtDNS segítségével meghatároztuk a szakasz bázissorrendjét, megvizsgáltuk a polimorfizmusokat, majd a mintákat haplotípusokba soroltuk, melyekből kiindulásként 33-at vettünk figyelembe. A többi minta nem volt besorolható az ismert 33-ba, így 6 új haplotípust írtunk le. A többszörösen illesztett szekvenciákból filogenetikai fákat készítettünk, UPGMA és Neighbor-Joining analízis alkalmazásával.

Eredményeink szerint a típusok két nagy csoportba különültek el, melyeket, követve a svéd kutatók nevezékτανát, nyugati és keleti típusoknak neveztünk. Európa térképén ábrázolva adatainkat és az eddigi ismereteink birtokában arra a következtetésre jutottunk, hogy a nyugati és keleti típusok nem mutatnak folytonos klineális jelleget, a keleti típus a keleti populációkban sem kerül abszolút többségbe, bár relatív aránya valamelyest nő. A hazai állományt részletesebben elemelve ez a diszkontinuus jelleg nyilvánvalóbbá vált.

A magyar és az európai nádirigó populációk genetikai strukturája összetettebb, mint azt korábban gondolták. A filogeografikus struktúra kialakulására nagy befolyással van a madarak költőterülethez és teledőterülethez való hűsége is. A költő populációk valószínűsíthetően nem keverednek. Ezért további részletesebb (kisebb területeket elemző; helyi populációkon belüli; az afrikai teledőterületek populációit érintő) vizsgálatok szükségesek.

TaxonPopBiol

A jégkorszaki maradvány magyarföldi husáng diszperz populációinak összehasonlítása

Lendvay Bertalan

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Kalapos Tibor

A reliktum endemizmus magyarföldi husáng (*Ferula sadleriana*) teljes világállománya hét szétszórt populációban él a Kárpát-medencében, amelyek közül hat természetes, egy valószínűleg telepített. A természetes állományok egymástól régóta izolálódhattak, genetikailag távolodhattak.

Azt a hipotézist vizsgáltam, hogy a populációk eltérnek-e az ikerkaszat résztermés morfológiájában (méretében, alakjában és rajzolatában). Sokváltozós statisztikai módszerekkel vizsgáltam a különböző populációkból származó egyedek hasonlóságát a róluk származó termések alapján.

Összevettem a populációk közötti földrajzi távolságot a termések morfológiája közötti különbséggel, valamint megállapítottam az egyes populációkra jellemző termésmorfológiát. A termések morfológiája alapján megpróbáltam felfedni a bizonytalan eredetű populáció származását. Ezen kívül a faj legnagyobb, megnyúlt alakú, Pilis-tetőn élő állományán belül megvizsgáltam a termésmorfológiai típusok térbeli eloszlását, valamint a magyarföldi husáng két – típuspéldánnyal és kvantitatív adatokkal alá nem támasztott – formájának létezését teszteltem statisztikailag.

TaxonPopBiol

Honos és kultúr borostyánok jellemzése citológiai módszerekkel és molekuláris markerekkel

Lengyel Szabina

Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészmérnök szak

Témavezetők: Dr. Bisztray György Dénes, Bényeiné Dr. Himmer Márta, Dr. Pintér István

A borostyán fajták széles körben elterjedt növények a dísznövénykertészetben és *Hedera helix*-nek gyógyhatása is ismert. A szakirodalomban számos ellentmondást találtunk az egyes taxonok rokonsági kapcsolatáról, elkülönítéséről, ezért fontosnak tartottunk elvégezni olyan vizsgálatokat, melyekkel információkat szolgáltatathatunk a *Hedera* nemzetség egyedeinek genetikai háttéréről. Mivel a morfológiai jellemzések nem adtak biztos háttérrel az egyedek elkülönítéséhez, citológiai és molekuláris módszerekkel próbálkoztunk.

A flow citométeres vizsgálat után számos kérdés merült fel egyes taxonok ploidiájakát illetően. Triploid fajtákat találtunk, melyekről a szakirodalomban eddig nem tettek említést. Citológiai vizsgálatokkal bizonyítottuk korábbi feltevésünket, miszerint az általunk szelektált és kultúrában élő fajták között vannak triploid egyedek.

A ploidia-szintre alapozott elkülönítést molekuláris markerekkel kívántuk kiegészíteni. Sikertelenül olyan primereket találtunk, melyekkel bizonyítható a *Hedera* taxonok közötti polimorfizmus, valamint elkülöníthetőek a különböző ploidiájú egyedek. Az eredmények ismeretében fontosnak tartjuk újabb vizsgálatok elvégzését a triploid egyedek származásának megállapításához.

„Kérdéses maradt, hogy a Nyugat-Európában leírt tetraploid *Hedera hibernica* (Kichner) Bean kultúrfaj és a nálunk ezen a néven elterjedt, sokáig a *H. helix* 'Hibernica' fajtájaként ismert, hasonlóképpen erőteljes (és invazív), honos borostyántól (*H. helix*) több morfológiai bélyegben és télállóságban is különböző, diploid kultúr borostyánok között milyen rokonsági kapcsolat áll fenn.” (Lengyel *et al.*, 2007)

TaxonPopBiol

A tigris (*Panthera tigris*) alfajok molekuláris taxonómiája

Mátrai Eszter
Szent István Egyetem, Zoológus szak

Témavezetők: Dr. Kabai Péter, Vili Nóra, Dr. Csorba Gábor

A tigris (*Panthera tigris*) a legnagyobb nagymacska faj, a természetvédelem világszerte ismert szimbóluma. Fokozottan veszélyeztetett, Délkelet-Ázsia csúcragadozója, amelynek elterjedése ma Szibériától Szumátráig tart.

A tigris kilenc alfajából három mára már kihalt. A hat élő alfaj esetében molekuláris genetikai alapon is bizonyították az alfaji elkülönülést, a három kihalt alfajnál ez eddig nem történt meg. A vizsgálataink végső célja az 1980-as években kihalt jávai tigris (*Panthera tigris sondaica*) alfaji szintű önállóságának igazolása molekuláris biológiai módszerek segítségével.

A vizsgálataink során a Magyar Természettudományi Múzeum (MTM) példányaiból kaptunk tiszta alfajból származó mintákat. A felbecsülhetetlenül értékes múzeumi mintákon történő munka előtt az eljárások kidolgozását két magánkézben tartott élő tigrisből származó mintákon kezdtük el.

A mintákat az élő egyedektől invazív, illetve nem-invazív módszerekkel gyűjtöttük. Minőségüket tekintve négyféle mintával dolgoztunk (tépett szőr- és bajusz-, szájnyálkahártya- és bélsárminta). A DNS kivonás során ötféle módszerrel illetve ezek kombinációival dolgoztunk, amelyekkel a fent felsorolt összes mintatípus esetében sikeresen izoláltuk a tigris DNS-t. A PCR során a mitokondriális DNS négy szakaszát erősítettük fel (CR, CytB, ND2a és b). Az összetevők mennyiségének változtatásával három mintatípus esetben (tépett szőr- és bajusz-, valamint szájnyálkahártya-minta) sikerült a reakció. Az élő állatból nyert mintákon standardizált eljárások segítségével sikeresen izoláltunk DNS-t múzeumi mintákból, és erősítettük fel a kontrollrégiót (CR) illetve az citokróm B (CytB) egy rövidebb szakaszát PCR segítségével. Végül a pozitív PCR termékek közül két különböző jávai tigrisből (*Panthera tigris sondaica*) származó minta bázisrendjét szekvenálás segítségével meghatároztuk.

Az adatbankban elérhető élő, genetikai alapon bizonyított tiszta alfajból származó tigris szekvenciák alapján rekonstruáltuk, valamint a génbankban megtalálható leopárd (*Panthera pardus*) szekvenciák segítségével gyökerezettük a törzsfát. A jávai tigrisekből származó szekvenciáinkat összehasonlítva a génbanki szekvenciákkal azt tapasztaltuk, hogy a CR szekvenciái egy ponton mutattak eltérést a többi alfajétól, míg a CytB szekvenciái mind a két példány esetében teljesen megegyezett a sumátrai alfajéval (*Panthera tigris sumatrae*), ami alapjaiban megkérdőjelezi a jávai alfaj taxonómiai hovatartozását.

TaxonPopBiol

**A Kárpát – Pannon régió kis fehér *Tuber*-einek taxonómiai
revíziója**

Merényi Zsolt

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológia BSc szak

Tamaskó Gabriella

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Vegyész szak

Témavezetők: Dr. Bratek Zoltán, Orczán Ákos Kund

A szarvasgombák felhasználása, kutatása napjainkban reneszánszát éli, ezért taxonómiájuk egységesítése, pontosítása is egyre sürgetőbb feladat. Ehhez járul hozzá jelen munka, mely a szarvasgombák egy nehezen határozható csoportja, a „kis fehér *Tuber*-ek” rendszertanának tisztázását célozza.

Célunk, hogy a gyakori és nehezen meghatározható kis fehér szarvasgombákra (*Tuber borchii*, *T. puberulum*, *T. scruposum*, *T. rapaeodorum*, *T. maculatum*) létrehozunk egy jól átlátható, makro- és mikromorfológiai bélyegeken alapuló határozókulcsot, kihasználva a molekuláris biológiai technika nyújtotta előnyöket.

A Tanszéken található és egyedülálló, földalatti gombákból álló mikotéka adatbázis és a környező országokból rendelkezésünkre álló gombagyűjtemények alapján választottuk ki a kis fehér szarvasgombákat, amelyek taxonómiai besorolása különösen problémás. Ezeket a fajokon makro- és mikromorfológiai vizsgálatokat végeztünk, ez alapján a nehezen besorolható és a jellegzetes mintákat DNS szekvenciaanalízisnek vetettük alá. Az alkalmazott DNS marker a sejtmagi riboszomális ITS régió, mely általánosan használt a gombák között a faji szintű elkülönítés meghatározására. Az ITS szekvenciák felhasználásával törzsfát szerkesztettünk a rokonsági és leszármazási viszonyok szemléltetésére.

A molekuláris és morfológiai vizsgálatok eredményeit összevetve javaslatokat teszünk a faji határok megállapítására és a kis fehér *Tuber*-ek új határozókulcsára.

TaxonPopBiol

Tarsza fajok (*Isophya*, Orthoptera) molekuláris evolúciós vizsgálata

Mészáros István, Götzer Katalin
Pécsi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Vadkerti Edit, Kuczmozg Anett, Dr. Hoffmann Gyula

A RAPD-analízis, mint kutatási módszer nagyon jól alkalmazható a különböző genomok hasonlóságának illetve különbségének a meghatározásában, populációk genetikai szerkezetének elemzésére, egyedek DNS ujjlenyomatának elkészítésére. A mtDNS analízis a filogenetikai vizsgálatoknál széles körben alkalmazott. A mitokondriális genom a sejten belül nagy számban fordul elő, így könnyebben kinyerhető, csak anyai ágon öröklődik, a kódoló és nem kódoló régiók mutációs rátája eltérő, ezért jól alkalmazható evolúciós vizsgálatokhoz.

Kutatásunk során hat magyarországi tarsza faj (*Isophya camptoxypha*, *I. costata*, *I. kraussi*, *I. modesta*, *I. modestior*, *I. stysi*) evolúciós-genetikai vizsgálatát végeztük el RAPD-analízissel, valamint a mitokondriális DNS két régiójának (NAD1-16S- és Cyt-B) szekvenencia-analízisével. Az egyedekből a DNS-t kloroformos módszerrel izoláltuk.

A RAPD-analízis során 38 OPERON primert próbáltunk ki, melyek közül 27 volt informatív. Informatívnak tekintettük azt a mintázatot, amelyikben nagyszámú jól elkülöníthető sávot kaptunk, függetlenül a monomorf-polimorf sávok arányától. A teljes sávszám 113 volt, melyből 107 mutatott polimorfíát (94,7%). Ez átlagosan 4,2 sávot jelentett primerenként, melyből 4,0 volt polimorf. Az egyes primerekkel kapott polimorf sávokat bináris, prezencia-abszencia típusú adatmátrixban rögzítettük, majd Hierarchikus klaszter-analízissel elemeztük.

A két különböző típusú molekuláris DNS analízis eredménye - ezen belül a két mtDNS régió analízise - hasonló eredményt adott. A legközelebbi rokonságot a korábban alfaji taxonómiai státuszban lévő *Isophya modestior* és *I. stysi* mutatja. Ehhez a két fajhoz legközelebb az *I. modesta* áll, majd az *I. costata*. Az *I. camptoxypha* és az *I. kraussi* fajok a másik négy tarsza fajtól külön csoportba kerültek.

TaxonPopBiol

Morfológiai variabilitás a *Melitaea telona kovacsi* és *Melitaea phoebe* hazai populációiban

Mikós Éva
Debreceni Egyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Pecsénye Katalin

A *Melitaea telona* taxonómiai önállósága csak az utóbbi években, a *Melitaea phoebe*-től markánsan elkülönülő lárvális tulajdonságai alapján bizonyosodott be. Az enzim-polimorfizmus vizsgálata a két faj hazai populációiban egyértelműen kimutatta a közöttük lévő magas szintű genetikai differenciálódást.

Célkitűzésem, megállapítani a két faj differenciálódásának mértékét a szárnyakon kiválasztott jellegek alapján, ill. a fenotípusos variancia megoszlását. A morfometriai vizsgálatok során azokat a mintákat használtam, amelyeknek genetikai analízise is megtörtént, így párhuzamot tudtam vonni a genetikai és a fenotípusos variancia szerkezete, és az eltérés mintázata között. A hierarchikus variancia analízis során megállapítottam milyen mértékben oszlik meg a totális fenotípusos variancia a hierarchia különböző szintjein. A populációkon belüli variabilitás mértékének összehasonlításához Levene-féle változókat állapítottam meg. Főkomponens analízissel megállapítottam a két faj elkülönülésének a mértékét. Az egyedek alapadatai segítségével Mahalanobis távolságot számoltam a fajok mintái között, dendrogramot készítettem, és sokdimenziós skálázást is végeztem. A diszkriminancia analízis és kanonikus változó analízis segítségével állapítottam meg a két faj elkülönülésének mértékét.

A vizsgálatok eredményei alapján megállapítottam, hogy mindkét faj esetében jelentős mértékű a populáción belüli variancia, de számottevő a populációk közötti differenciálódás mértéke is. A *Melitaea telona* populációkból több minta állt rendelkezésemre, így a populációk közötti időbeli differenciálódást is sikerült kimutatnom. Ezen megállapításaimat mind az egyváltozós, mind a sokváltozós analízisek alátámasztották. Az eredmények nem egyértelműek a két faj differenciálódását illetően a szárnyak morfometriai jellegei alapján. A variancia elemzésén alapuló egy- vagy többváltozós módszerekkel nem sikerült igazolni a két faj differenciálódását. Azok a többváltozós módszerek, amelyeknek alapvető célja a csoportok közötti különbségek megállapítása a különböző algoritmusokkal, egyértelmű elkülönülést mutattak a két faj egyedei között, a mintákon belül mutatkozó jelentős mértékű variabilitás ellenére.

Az általam kimutatott morfometriai differenciálódás a két faj között összhangban van a genetikai analízisek eredményeivel. Mindezek az eredmények alátámasztják a *M. telona kovacsi* faji státuszát.

TaxonPopBiol

**Gyíkfajok szerepe a kullancsok és az általuk terjesztett spirochéták
fenntartásában**

Rigó Krisztina
Szent István Egyetem, Alkalmazott zoológus szak

Témavezető: Dr. Földvári Gábor

A *Borrelia burgdorferi* sensu lato a természetben egy, az *Ixodes ricinus* fajkomplexbe tartozó kullancsok és sokféle gerinces gazda által létrehozott, bonyolult ciklus segítségével marad fenn. Számos európai emlős és madárfaj egyedeiben sikerült már felfedezni a Lyme-kórt okozó spirochéták jelenlétét, és nemrégiben kimutatták egyes gyíkfajok szerepét is e baktériumcsoport fenntartásában. Vizsgálatunk célja az volt, hogy megállapítsuk, milyen szerepet játszanak a magyarországi gyíkfajok a *Borrelia burgdorferi* sensu lato fejlődési ciklusában.

A 2007. és 2008. évben összesen 186 hullót gyűjtöttünk Gödöllő mellett, melyek három fajba tartoztak: zöld gyík (*Lacerta viridis*), fűrge gyík (*Lacerta agilis*) és homoki gyík (*Podarcis taurica*). A gyíkokról összesen 472 kullancsot (324 lárvát és 148 nimfát) távolítottunk el. A határozás során valamennyi gyűjtött parazita *Ixodes ricinus*-nak bizonyult. A zöld gyíkok több mint fele (52,4 %-a), míg mind a fűrge, mind a homoki gyíkoknak 35 %-a volt kullancssal fertőzött.

Az összes gyíkokról gyűjtött kullancsból, ezen kívül 134 nyaki pikkely-mintából és 62 ujjvégből kivontuk a DNS-t, majd specifikus polimeráz láncreakcióval végeztük a *Borrelia burgdorferi* sensu lato kimutatását. A fűrge gyíkok 10%-a, a homoki gyíkok 6,38%-a és a zöld gyíkok 5,76%-a bizonyult a spirochétával fertőzöttnek. A gyíkokról gyűjtött kullancsok 6,57%-ánál kaptunk pozitív eredményt. A *Borrelia* fertőzöttség prevalenciája 7,56% lett a zöld gyíkokról, 1,86% a homoki gyíkokról és 0% a fűrge gyíkokról gyűjtött kullancsok esetében. 2008-ban lehetőségünk nyílt a pozitív mintákból a pontos genotípusok meghatározására restrikciós fragmenthossz-analízis segítségével. Valamennyi gyíkegyedben *Borrelia lusitaniae* okozta a fertőzést. A legtöbb fertőzött kullancsból is *Borrelia lusitaniae* volt detektálható, ezenkívül egy zöld gyíkról eltávolított lárvából *Borrelia afzelii*-t, és zöld gyíkokról gyűjtött lárvából és nimfákból, valamint egy homoki gyíkról gyűjtött lárvából *Borrelia burgdorferi* sensu stricto-t mutattunk ki.

Eredményeink alapján azt a következtetést vonhatjuk le, hogy a gyíkok, különösen a *Lacerta viridis*, fontos gazdái az *Ixodes ricinus* fajba tartozó lárváknak és nimfáknak. A zöld gyíkok esetében igazoltnak látszik, míg a homoki gyíkok és a fűrge gyíkok esetén valószínűsíthető, hogy nemcsak a kullancs vektorok, hanem az általuk terjesztett *Borrelia lusitaniae* fenntartásában is fontos szerepet játszanak a vizsgált területen.

TaxonPopBiol

**Faunisztikai és taxonómiai vizsgálatok a Kárpát-medence
Zerconidae (Acari: Mesostigmata) fajain**

Ujvári Zsolt

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Kontschán Jenő

A Zerconidae család a Mesostigmata rendbe tartozó, holarktikus elterjedésű csoport, 35 genuszuk mintegy 300 faja ismert. A talajfauna fontos komponensei. Életmódjukról keveset tudunk, de bizonyítottan ragadozók, táplálékuk jelentős részét Nematoda fajok teszik ki. Legnagyobb faj- és egyedszámban közép- illetve magashegységekről, mohából, nedves, hifákkal gazdagon átszótt avarból és talajból kerülnek elő, ahol táplálékállataik nagy egyedszámban megtalálhatók.

Dolgozatom fő célja a Kárpát-medence eddig nem, vagy alig kutatott régióiban élő Zerconidae fauna feltárása, ezen kívül a különböző területeken élő azonos fajú egyedek morfológiai különbségeinek bemutatása, valamint a terület faunáján érvényesülő zoogeográfiai hatások vizsgálata volt. A kutatás során Magyarország faunáját 11, Romániáét 5, Szerbiáét 6, Horvátországot pedig 8 faunára új faj kimutatásával gazdagítottam, mindemellett számos ritka faj új előfordulását is bemutattam. Horvátországban továbbá egy, a tudományra nézve új fajt találtam (*Zercon kontschani* Ujvári 2008). Az egyedek azonosításakor a szakirodalmak összevetésével több faj esetében feltételezhető szinonímiára lettem figyelmes.

A több mint 500 helyről gyűjtött, 5000-nél is több azonosított egyed vizsgálata során néhány faj esetében kisebb-nagyobb morfológiai változékonyságról számoltam be. Az új faunisztikai eredmények alapján pontosabb képet kaptam a Kárpát-medencében érvényesülő állatföldrajzi hatásokról. A területeket a fajok jelenléte alapján statisztikusan összehasonlítottam.

Természetvédelmi biológia tagozat

Időpont: Április 8. 15:00

Terem: O épület, 6. terem

A zsűri elnöke: **Prof. Szép Tibor**, főiskolai tanár
Nyíregyházi Főiskola, Környezettudományi Tanszék

tagjai: **Dr. Nagy Lajos**, természetvédelmi területfelügyelő
Balaton-felvidéki Nemzeti Park Igazgatóság

Petróczi Imre, szakmai igazgatóhelyettes
Balaton-felvidéki Nemzeti Park Igazgatóság

15:00	Baranyi Gabriella	ELTE TTK	Egy ragadozómadár élőhelyhálózatának elemzése: módszertani áttekintés
15:20	Gyórfi Péter	DE TTK	Kisemlős társulások összetételének hosszútávú változása a klímaváltozással összefüggésben
15:40	Herczeg Róbert, Tamási Kitti	PTE TTK	Az északi pocok rekolonizációs mintázata a Kis-Balaton lápterületein
16:00	Hubai Katalin Eszter	PE MK	Balaton-felvidéki időszakos tavacsák limnológiai sajátosságai és természetvédelmi szerepe
16:20	Kelemen András, Miglécz Tamás	DE TTK	Alacsony diverzitású magkeverék vetésével történő természetvédelmi gyeprekonstrukció korábbi lucernások helyén
16:40	Szünet		
16:50	Breznai Judit, Schmidt Júlia, Kovács Attila, Csósz István	DE TTK	Éjszakázóhely választás a hortobágyi darvaknál
17:10	Vasenszki Tamás	NYF TTFK	Talajlégzési vizsgálatok avarmanipulációs kísérletekben (Síkfőkút Project)

TermvédBiol

**Egy ragadozómadár élőhelyhálózatának elemzése: módszertani
áttekintés**

Baranyi Gabriella

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Környezettudományi szak

Témavezető: Dr. Jordán Ferenc

Számos élőlény többé-kevésbé jól meghatározható élőhelyfoltokhoz kötődik. A természetvédelmi biológia egyik legnagyobb kihívása, hogyan lehet számszerűsíteni az egyes élőhelyfoltok fontosságát, és így meghatározni azokat a területeket, amelyek védelme a leghatékonyabban szolgálja az adott faj fennmaradását. Ez a kérdés módszertani problémák sorát veti fel. Számítalan hálózatelemzésre használt index áll rendelkezésünkre, amelyek különböző szempontok alapján értékelik az élőhelyfoltokat.

Munkánk során két indexcsalád tagjait vetettük össze egymással (Conefor Sensinode 2.2 és UCINET 6.0). Azt vizsgáltuk, hogy az indexek pontosan milyen szempontokat vesznek figyelembe, hogyan viszonyulnak egymáshoz, melyek a közös tulajdonságaik és melyeket célszerű az adott esetben nagyobb súllyal figyelembe venni, hogy biológiailag értelmes és használható eredményt kapjunk. Ennek vizsgálatához a Spanyolország északi részén élő héjás (*Accipiter gentilis*) élőhelyhálózatának adatai kitűnő alapot nyújtottak.

Madaraknál az élőhelyfoltok hálózata teljes gráfnak tekinthető, a nagyon kis valószínűséggel használt, hosszú folyosók fokozatos kiiktatásával azonban a hálózat egyre egyszerűbb és egyben egyre inkább funkcionáló változatait nyerhettük. Célunk volt, hogy rávilágítsunk, milyen mértékben befolyásolja egy adott faj viselkedésének figyelembevétele az élőhelyhálózatáról és annak sérülékenységéről kialakított képünket, és ezáltal a védelmi stratégia kidolgozását. Ehhez elsőként globális, majd lokális indexekkel jellemeztük a hálózatot, s ezek alapján megalkottuk az élőhelyfoltok prioritási sorrendjét. Emellett azt is vizsgáltuk, hogy a legfontosabb helyzetű élőhelyfoltok indexértékei mennyire kiugróak. Megvizsgáltuk, hogy a küszöbértékek változtatása milyen hatással van a hálózat globális tulajdonságaira, valamint a fent említett két indexcsalád tagjait páronként összehasonlítottuk.

Megállapítottuk, hogy egyes összefüggések az indexek rokonságából, mások pedig a konkrét élőhelyhálózat szerkezetéből, a faj biológiai tulajdonságaiból következnek. Ezek elkülönítése rendkívül fontos, hiszen a távoli rokonságban lévő indexek súlyozott figyelembevételével különböző biológiai szempontokat is figyelembe vehetünk, így pedig könnyebb azonosítani a ténylegesen fontos élőhelyfoltokat.

TermvédBiol

Kisemlős társulások összetételének hosszútávú változása a klímaváltozással összefüggésben

Győrfi Péter
Debreceni Egyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Bihari Zoltán, Dr. Schnitchen Csaba

A globális klímaváltozással összefüggésben egyre intenzívebb és átfogóbb vizsgálatok történnek világszerte.

Munkám során a Kárpát-medence kisemlős faunájának változását vizsgáltam a klímaváltozással összefüggésben. A Tiszántúl és a Duna-Tisza köze kilenc kistáján bagolykőpet vizsgálatok alapján több évtizedes összehasonlítást végeztem két cickány faj esetében.

A vizsgálat során azt figyeltem, hogy ezen fajok aránya milyen irányban változott az egyes biotópokban a klímaváltozás hatására. Az egyes évtizedek, területek adatait összevettem, vizsgáltam az összefüggést az azonos jellegű területek között illetve statisztikai próbákat végeztem egy esetleges tendencia megfigyelésére.

Eredményeim azt mutatják, hogy a vizsgált kilenc kistáj esetében az elmúlt évtizedek adatait figyelembe véve egyik fajnál sem igazolható szignifikáns változás a köpetekben lévő egyedszámok arányában. Ez azt jelenti, hogy sem a keleti cickány, sem a mezei cickány populációjánál nem mutatható ki a globális klímaváltozás okozta szárazodás hatása. Érdeemesnek tartom további részletes vizsgálatok elvégzését ilyen irányban, mivel napjaink egyik meghatározó eseménye a klímaváltozás.

TermvédBiol

**Az északi pocok rekolonizációs mintázata a Kis-Balaton
lápterületein**

*Herczeg Róbert, Tamási Kitti
Pécsi Tudományegyetem, Környezettudományi szak*

Témavezető: Dr. Horváth Győző

A NBmR keretén belül a 2007-ben ismét megtalált sármelléki északi pocok állomány időbeli dinamikáját nagyobb csapdázási ráfordítása alapján metapopulációs megközelítésben vizsgáltuk. Az adatok elemzéséhez újabb statisztikai módszereket vezetünk be, amely a mintavétel jelenlét-hiány adataira építve becsli meg a vizsgált faj terület-elfoglalási valószínűségét, illetve a kolonizációs és kihalási rátát. Számításaink során a MARK programot használtuk. Az alkalmazott modellek figyelembe veszik, hogy a kimutatás hiánya nem egyenértékű a teljes hiánnyal. A jelenlét-hiány adatokat úgy használják fel az élőhely-foglalás és a migrációs események értékeléséhez, hogy a kimutatás valószínűségét egynél kisebb értékűnek feltételezik, ami a kisemlősök esetében csaknem mindig így van. Az elemzések során két mintavételi területet vizsgáltunk, az egyik egy nádas állománnyal körülvevő sásos élőhely (A5), míg a másik mintaterület egy nagyobb kiterjedésű homogén sásos folt (A3), amit 2007-ben lekaszáltak. Az érintetlen A5-ös mintaterületet azért jelöltük ki, hogy vizsgáljuk a meghagyott vegetáció foltok, mint menekülőterek jelentőségét, illetve az itt jellemző dinamikai viszonyokat össze tudjuk hasonlítani az ismét regenerálódó nyílt területekkel.

Az északi pocok becsült detektálási valószínűsége szignifikánsan magasabb volt a menekülő területként jellemzett élőhely foltban, mint a nyíltabb homogén sásos területen. A becsült terület-elfoglalási valószínűség értékek nem különböztek szignifikánsan a két terület összehasonlításában. Az A3-as kvadrát terület-elfoglalási értékeiből arra következtettünk, hogy itt igen erős volt az egyedek migrációs tevékenysége, melynek következtében tavasztól ősziig folyamatosan nőtt a terület-elfoglalás valószínűsége. Az A5-ös területnél a valószínűségi érték szezonális alakulására telítési görbét kaptunk, ami azt igazolta, hogy ezt a menekülőteret az északi pocok stabilan használta, a migráció okozta változások lényegesen kisebb mértékűek voltak, mint a másik területen.

A modellszelekció során kapott eredmények alátámasztották azt a feltételezésünket, hogy az újonnan kijelölt mintavételi terület (A5), mint menekülőteret szolgált az északi pocok számára. Továbbá azt is bizonyítottuk, hogy ennek a menekülőteretnek a megléte biztosította a populáció túlélését, hiszen az északi pocok egyedek erről a területről elvándoroltak és rekolonizálták a kaszálás után regenerálódott területeket.

Termvédbiol

Balaton-felvidéki időszakos tavacskák limnológiai sajátosságai és természetvédelmi szerepe

Hubai Katalin Eszter

Pannon Egyetem, Kémia-környezettan tanár szak

Témavezető: Dr. Padisák Judit

A magyarországi hidrobiológiai szakirodalom alapvetően a nagyobb vizek – tavak, folyók – jelenségeivel foglalkozik hangsúlyosan, s csak az utóbbi években kezdődött a kisebb vizek rendszeres kutatása. A magyarországi nagy tavak - mint a Balaton, Fertő-tó, Tisza-tó és Velencei-tó - mellett több mint 4000 állandó vagy időszakos kis tó található, s még nagyobb az akár a térképeken sem jelzett kisebb vizek száma. Ezen kis tavak vizsgálata eddig háttérbe szorult. A kis, időszakos vizek limnológiai vizsgálatával kevesen foglalkoztak, pedig ezek az élőhelyek nagyon fontos szerepet töltenek be egyes kétélűfajok, és növényfajok életében.

Munkám során 10 időszakos Balaton-felvidéki tavacskát vizsgáltam. Meghatároztam legfőbb limnológiai paramétereiket, valamint folyamatosan figyeltem a területen élő növény és állatfajok megjelenését, életciklusát, illetve a területen tartózkodás időtartalmát.

A tavak erdővel teljes mértékben borított területen találhatóak, így folyamatosan árnyékoltak. A területen cseres- tölgyes- gyertyános erdőt találunk. A tavak felszíne maximális vízszint esetén is csupán 42 m², és maximális mélységük 110 cm. Üledék mintavétel során tapasztaltam, hogy a maximális üledék mélység 25 cm. Átlagos vízzel borítottság változó, de általában 8 hónap, novembertől- júniusig.

Megfigyeltem vizsgálataim során vízisiklót (*Natrix natrix*), kecskebékát (*Rana esculenta*), erdei békát (*Rana dalmatina*), barna varangyot (*Bufo bufo*), zöld varangyot (*Bufo viridis*). A tavakban talált hajtásos növények: békalencse (*Lemna* sp.), sás (*Carex* sp.), békaliliom (*Hottonia palustris*), hínáros víziboglárka (*Batrachium trichophyllum*).

Termédbiol

**Alacsony diverzitású magkeverék vetésével történő
természetvédelmi gyeprekonstrukció korábbi lucernások helyén**

*Kelemen András, Miglécz Tamás
Debreceni Egyetem, Biológus szak*

Témavezetők: Dr. Tóthmérész Béla, Dr. Török Péter

Az utóbbi évtizedekben a természet- és tájvédelemben egyre nagyobb szerepet kapnak a tájleptéktű rehabilitációs programok, melyek a faj- és élőhely-védelem mellett, fontos szerepet játszanak a biológiai sokféleség megőrzésében. Pályamunkánkban Egyek-Pusztakócs térségében (Hortobágy Nemzeti Park) zajló, az Európai Unió által támogatott visszagyepesítési program eredményeit vizsgáljuk.

Vizsgálatainkban arra kerestük a választ, hogy a visszaállítani kívánt gyepek vázfajait tartalmazó magkeverékek kiszórása hogyan hat a felhagyott lucernások szekunder szukcessziójára. Kutatásunk során az alábbi kérdésekre kerestük a választ:

(i) Hogyan befolyásolja alacsony fajgazdagságú (2-3 faj) magkeverék kiszórása a korai kolonizáló közösség diverzitását és fajkészletét? (ii) Milyen hatással van a magszórással történő gyepesítés a korai stádiumú növényközösségek fajainak fitomasszájára? (iii) Milyen gyors az átmenet a gyomok által dominált közösségek és az évelő fűvek által dominált vegetáció között?

Intenzív művelésű lucernások helyén 93 ha területen végeztünk magvetéses visszagyepesítést 2005-ben. A visszagyepesítés során kétféle, sziki és lőszgyepi vázfajokat tartalmazó magkeveréket használtunk (szik magkeverék: *Festuca pseudovina*, *Poa angustifolia*, lősz magkeverék: *Festuca rupicola*, *Poa angustifolia*, *Bromus inermis*) 25 kg ha⁻¹ mennyiségben. A gyepesítés sikerességét állandó kvadrátok növényzetének felmérésével és fitomassza mintavétellel vizsgáltuk.

A vetést követő évben a vegetációban rövid élettartamú fajok (pl. *Matricaria inodora*, *Capsella bursa-pastoris*, *Polygonum aviculare*) voltak dominánsak. Az évelő dominanciájú gyepek kialakulása igen gyorsnak bizonyult. A vetett fűvek már a gyepesítést követő második évben dominánssá váltak, kiszorítva a rövid élettartamú kétszikű fajokat. A vetett magkeverék fajai erőteljesen csökkentették a korai kolonizáló közösség fajszámát és diverzitását. Az átlagos fajszám mintegy felére, a kétszikűek átlagos fajszáma közel a harmadára csökkent. A visszagyepesedés folyamán elindult a fűavar felhalmozódás; 2007-ben minden területen szignifikánsan magasabb holt fitomassza tömegeket detektáltunk. Ezzel szemben a kétszikű fitomassza tömege 2007-re mintegy két nagyságrenddel csökkent. 2008-ra ezek a folyamatok lelassultak.

Eredményeink jól mutatják, hogy a magvetéssel történő visszagyepesítés hatékony és gyors módszer a gyepek domináns fűállományának helyreállítására és a gyomok visszaszorítására. Azonban a helyreállítani kívánt társulásokat jellemző kísérő fajok visszatelepüléséhez további beavatkozások lehetnek szükségesek (kétszikű magkeverékkel történő felülvetés, szénaráhordás illetve legelő állapot segítségével történő propagulum szállítás).

TermvédBiol

Éjszakázóhely választás a hortobágyi darvaknál

*Breznai Judit, Kovács Attila, Csősz István
Debreceni Egyetem, Biológus szak*

*Schmidt Júlia
Debreceni Egyetem, Biológia kiegészítő szak*

Témavezetők: Dr. Barta Zoltán, Dr. Végvári Zsolt

Számos vizsgálat szerint az éjszakázóhelyek biztonsága, védelme fontos szerepet játszhat az éjszakát ott töltő fajok populációjának védelmében. Éppen ezért kiemelt fontosságú megismerni, hogy pontosan milyen folyamatok játszódnak le az éjszakázóhelyek elfoglalásakor, vannak-e preferált magterületek, mennyire határozzák meg e magterületek a benépesülési folyamatokat.

A darvak kiváló alanyai az ilyen típusú megfigyeléseknek, mert csoportosan pihennek és táplálkoznak, nagytestűek, és éles „krugató” hangjukról könnyen felismerhetők már messziről. A madarak pihenőhely használatáról eddig kevés információnk van, ezért célszerű, hogy megismerjük az éjszakázóhelyre való betelepülés térbeli és időbeli változását, valamint az esetlegesen erre ható zavaró tényezőket, melyek befolyásolhatják a behúzás természetes folyamatát.

A vizsgálatainkat 2007-ben végeztük Hortobágyon a Kondás nevű halastavon. Eredményeink alapján az éjszakázóhelyre való beérkezés ideje egyedül csak a hőmérséklettel van összefüggésben. A tavon elfoglalt helyek térbeli és időbeli elhelyezkedése során azt tapasztaltuk, hogy az első beszálló darvak kijelölik a később használt területeket és az utánuk érkező csapatok az elsők mellé szállnak. Az első beszállások mintázata jól mutatja a madarak által előnyben részesített területeket: a nádszegélyt, és a középső sziget környékét.

Ezek alapján több preferált hely létezik a Kondáson. A darvaknak nagyon fontosak a jó éjszakázóhelyek, így fontos feladat ezen területek nyugalmának biztosítása, valamint erre alkalmas vizes élőhelyek kialakítása. Nem szabad azonban elfelejteni, hogy nemcsak a pihenőhelyeket kell védeni, hanem azok környékét is, hiszen a darvak, és más madarak előéjszakázóhelye a pihenőhely közelében található.

A mi tapasztalataink szerint a fő zavaró tényezőt az antropogén hatások jelentik. Az esetleges predátorok megjelenése nem zavarta a darvakat. Ezzel szemben az ember által okozott zavarás igen jelentősen hat az állatokra.

Termédbiol

Talajlégzési vizsgálatok avarmanipulációs kísérletekben (Síkfőkút Project)

*Vasenszki Tamás
Nyíregyházi Főiskola, Biológia-környezetvédelem szak*

Témavezető: Dr. Kotrocó Zsolt

A légköri CO₂ tartalom emelkedése különösen az 1960-as évektől jellemző. A CO₂ koncentráció emelkedésével párhuzamosan az évi átlaghőmérsékletek is emelkedtek. Napjainkban a légkör növekvő CO₂ tartalma az egyik leginkább hangoztatott probléma, hiszen az 1700-as évek elején, az iparosodás előtti időszakban a légkör átlagos CO₂ tartalma 280±5 ppm volt. Az 1980-as években elérte a 350 ppm-et, ami 25%-os növekedést jelent. A CO₂ koncentráció emelkedésével párhuzamosan az évi átlaghőmérsékletek is emelkedtek. Becslések szerint a 21. század elejére 1-1,5 °C-os hőmérsékletemelkedés, míg az évi csapadékösszegben 80 - 100 mm-es csökkenés várható.

A Síkfőkút Project keretében végzett avarmanipulációs kísérletek során arra a kérdésre keressük a választ, hogy a klímaváltozás, az avar mennyiségének a megváltoztatásán keresztül, várhatóan hogyan fogja befolyásolni a talaj hőmérsékletét, nedvesség-tartalmát, a talajlégzés intenzitását, ezen keresztül a globális szénkörforgalmat és az üvegházhatást. Továbbá a talajlégzés részeinek összetevői hogyan oszlanak meg a vizsgált területen.

A DIRT Projectet hosszú távra (long-term), több évtizedre, az avar input és a talaj szerves anyag képződés bonyolult biológiai és kémiai összefüggéseinek a feltárására tervezték. Kezelésenként három, így a hatféle kezelés esetében összesen 18 parcellát állítottak be. A különböző kezelésű parcellák talajának átlaghőmérsékletét összehasonlítva megállapítható, hogy az eltérő vastagságú avartakaró a nyári és a téli időszakban jelentősen befolyásolta a talaj hőmérsékletét és ezzel az éves hőingását is. A különböző vastagságú avartakaró talajhőmérsékletre gyakorolt hatása nem hagyható figyelmen kívül, mivel a talajhőmérséklet jelentősen befolyásolja a talaj-mikroorganizmusok aktivitását, így a lebontó folyamatokat és a talajlégzést is. A talajhőmérséklet és a talajlégzés között szoros összefüggés mutatható ki. A kezeléstől függetlenül minden parcellában megfigyelhető volt, hogy a talajhőmérséklet növekedésével a talaj szén-dioxid kibocsátása nőtt.

A klímaváltozás folyamán az avarprodukciónak a felmelegedés valószínűleg növeli, ugyanakkor a szárazodás csökkenti, azaz a két folyamat együttes hatása, eredője fogja meghatározni a változások irányát, tendenciáját. Avarmanipulációs modell-kísérleteink eredménye szerint, akár milyen irányban is változik majd az avarprodukciónak a felmelegedés hatására, a talajból történő szén-dioxid kiáramlás a talajhőmérséklet emelkedésével fokozódni fog. A feltételezett, pozitív visszacsatolású folyamat létezése tehát valószínűsíthető, ami a globális felmelegedést tovább fogja növelni.

Virologia tagozat

Időpont: Április 9. 15:00

Terem: N épület, 301. terem

A zsűri elnöke: **Dr. Deák Judit**, egyetemi docens
Szegedi Tudományegyetem, Klinikai Mikrobiológiai
Diagnosztikai Intézet

tagjai: **Dr. Jakab Ferenc**, egyetemi adjunktus
Pécsi Tudományegyetem, Genetikai és Molekuláris
Biológiai Tanszék

Prof. Rusvai Miklós, tanszékvezető egyetemi tanár
Szent István Egyetem, Kórbonctani és igazságügyi
állatorvostani tanszék

15:00	Albert Zsolt	BCE KTK	A növényi kriptovírusok rokonsági viszonyainak és eredetének kísérletes és bioinformatikai analízise
15:20	Bartha István	ELTE TTK	A HIV-fertőzés patogenezisének evolúciós vizsgálata matematikai modellezéssel
15:40	Bérczi Bálint, Madai Mónika	PTE TTK	Magyarországi és horvátországi erdeiegek (<i>Apodemus</i>) által hordozott <i>Dobrava</i> hantavírusok kimutatása és genetikai variabilitásának vizsgálata
16:00	Dandár Eszter	SZIE ÁOTK	Adeno- és herpeszvírusok előfordulásának felmérése ragadozók (Carnivora) mintáinak PCR-es vizsgálatával
16:20	Kern Anita	ELTE TTK	Humán patogén vírusok kimutatása magyarországi fürdővizekből
16:40	Szünet		
16:50	Lévai Réka	ELTE TTK	Vaddisznóból izolált klasszikus sertéspestis vírustörzs biológiai tulajdonságainak vizsgálata házi sertésben
17:10	Mészáros Beáta	DE TTK	Humán herpeszvírus 6 reaktiváció vizsgálata vesetranszplantáltakban
17:30	Szalkai Teodóra	ELTE TTK	Magyarországon előforduló Nyugat-Nílusi vírushatások jelentősége és szeroepidemiológiai vizsgálata
17:50	Takács Irma, Pásti Emese	SZTE ÁOTK	Intelligens vírusok kifejlesztése idegi hálózatok jelölésére

Virologia

A növényi kriptovírusok rokonsági viszonyainak és eredetének kísérletes és bioinformatikai analízise

Albert Zsolt

Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészmérnök szak

Témavezetők: Dr. Lukács Noémi, Dr. Ladányi Márta, Szegő Anita

A növényi kriptikus vírusokat a Partitiviridae család Alphacryptovirus és Betacryptovirus nemzetségébe sorolják. A BCE Növényélettan és Növényi Biokémia Tanszékén Szegő Anita kimutatta, hogy a cukorrépában előforduló és az Alphacryptovirus nemzetségbe tartozó Beet Cryptic Virus 1 genomi dsRNS1 szegmense a pillangósokban előforduló Vicia Cryptic Virus és White Clover Cryptic Virus 1 megfelelő szegmenséhez 86 %, ill. 88 % azonosságot mutat.

Kísérleteim során megvizsgáltam, hogy a BCV1 dsRNS2 szegmense amplifikálható-e RT-PCR-rel a már ismert VCV és WcCV1 CP-szekvenciákból levezetett degenerált primerek segítségével. Az eredmények azt igazolták, hogy a hasonlóság kellően nagyfokú ahhoz, hogy a degenerált primerek használata korrekt PCR-termékek képződéséhez vezessen. Eredményünk azt mutatja, hogy az irodalomban leírtakkal ellentétben egymástól távoli növényfajokban is előfordulhatnak egymással nagyfokú hasonlóságot mutató kriptikus vírusok, ami ezen vírusok késői elválására utal.

A kriptikus vírusok evolúciós eredetének és rokonsági viszonyinak tisztázására célul tűztük ki olyan eljárások bevezetését, melyek nem csupán az RdRp-k összehasonlítására szorítkoznak. Ezen eljárásokat a kodonhasználat analízisére alapoztuk, és többváltozós biometriai módszereket foglaltak magukba.

Az egyes organizmusokat származásuk alapján csoportokra osztottuk, és kodonhasználatukat diszkriminanciaanalízisnek vetettük alá. A kriptikus vírusokat érintő vizsgálatok közül a Potyvirusok-Partitivirusok összehasonlítása volt jelentős, ebben az esetben a kriptikus vírusok két alcsoportra oszlottak, a gombákkal, illetve növényekkel rokon csoportokra.

A főkomponens-analízisek esetében a kriptikus vírusokat érintő vizsgálatokban minden esetben elkülönült egymástól két, illetve három kriptikus vírus csoport, melyek közül egy a gombák vírusaival, egy a növények vírusaival, egy harmadik pedig átmenetként, a kettő között jelent meg.

A biometriai eljárások alkalmazhatóságának vonatkozásában elmondható, hogy teljes, illetve közel teljes, az organizmust jól reprezentáló szekvenciaadatok ismeretében kielégítő eredményt kapunk, azonban nagyon lényeges a kellő mintaelemszám helyes megválasztása is. Összességében megállapítható, hogy a kodonhasználat diszkriminancia-analízissel és főkomponens-analízissel végzett vizsgálata alátámasztja a BCV1, VCV és WcCV1 Partitivirusokkal való rokonságát és a jelenleg közös rendszertani csoportba sorolt Alphacryptovirus-ok heterogenitását. E heterogenitás a Partitiviridae család jelenlegi rendszerezését is megkérdőjelezi.

Vírol

**A HIV-fertőzés patogenezisének evolúciós vizsgálata matematikai
modellezéssel**

Bartha István

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Müller Viktor

A szakirodalom egyre szélesebb körben osztja a nézetet, amely szerint a HIV-fertőzöttekben fellépő szisztémás immunaktiváció kulcsfontosságú tényezője a betegség lefolyásának. Az elméleti ökológia eszközeivel megmutattuk, hogy a vírusnak a tisztán szisztémás immunaktivációt kiváltó képessége nem áll közvetlen szelekciós nyomás alatt, és altruista bélyegnek tekinthető, amely térben homogén populációban nem terjedhet el.

A szervezetben a HIV fertőzés folyamatai nagyrészt tagolt térbeli struktúrával rendelkező nyirokszövetben játszódnak le, ezért a vírus replikációja megjelenő és eltűnő fertőzési gócok halmazával írható le. Egy ilyen populáció strukturált dém (Wilson 1975), amelyben az altruista bélyeg elterjedhet.

Számítógépes szimulációval igazoltuk, hogy a csak a szomszédos sejtekre kiterjedő lokális immunaktiváció kiváltásának a képessége evolúciós szempontból előnyös a vírus számára.

Eredményeink az irodalomban található adatok tükrében azt sugallják, hogy a betegekben megfigyelhető generális immunaktiváció a lokális folyamatok mellékhatása. Ebben az esetben a gazda evolúciója csökkentheti a virulenciát, az evolúciós nyomás alatt álló lokális immunaktiváció szétkapcsolódhat a betegséget okozó szisztémás immunaktivációtól. Erre a természetben látunk példát a nem patogén SIV fertőzések esetében.

Ezek szerint a HIV evolúciója valószínűleg nem fog rezisztenciát kialakítani azok ellen a gyógyszerhatóanyagok ellen, amelyek csak a szisztémás immunaktiváció kiváltását akadályozzák.

Vírol

Magyarországi és horvátországi erdei egerek (*Apodemus* sp.) által hordozott Dobrava hantavírusok kimutatása és genetikai variabilitásának vizsgálata

Bérczi Bálint, Madai Mónika
Pécsi Tudományegyetem, Biológia-környezetan szak

Témavezető: Dr. Jakab Ferenc



A Dobrava hantavírusok a Bunyaviridae családba, azon belül a *Hantavirus* genusba tartozó kórokozók, melyeket a sárganyakú erdei egér (*Apodemus flavicollis*) és a pírók erdei egér (*Apodemus agrarius*) hordoz. A vírus, kórházi kezelést is igénylő vérzéses lázzal járó veseszindrómát (HLVS) okoz, melynek kimenetele a megfelelő kezelés hiányában igen súlyos szövődeményekkel járhat.

Munkánk célja a Dobrava hantavírusok gyakoriságának felmérése, valamint genetikai variabilitásának vizsgálata hazai illetve a szomszédos horvátországi területeken gyűjtött rágcsálók szövetmintáiból.

A kisméretű öt különböző helyszínen gyűjtöttük 2005-2007 között. Az állatokat boncoltuk és a további vizsgálatokhoz a tüdőszövetet használtuk fel. A virális RNS-t TRIzol® reagenssel vontuk ki, a gyártó utasítása szerint. Dobrava hantavírust SYBR Green alapú valós-idejű RT-PCR módszerrel, újonnan tervezett vírus specifikus primer segítségével detektáltuk. A pozitív mintákat további molekuláris szekvencia analízisnek és filogenetikai analízisnek vetettük alá.

Jelen kísérlet során 125 *Apodemus* sp. (*A. agrarius* n=63, *A. flavicollis* n=62) fajt gyűjtöttünk és teszteltük Dobrava hantavírus jelenlétének igazolására. A tesztelt minták közül 3 (4,8%) *A. agrarius*-ból és 7 (11,3%) *A. flavicollis* rágcsálóból sikerült a vírust kimutatnunk. A filogenetikai és molekuláris szekvencia analízis alapján úgy tűnik, hogy legalább két különböző genotípusú Dobrava hantavírus cirkulál a vizsgálati területen (Magyarországon és Horvátországon). Az általunk azonosított vírustörzsek filogenetikailag leginkább a szomszédos Szlovéniában kimutatott vírusokkal mutatták a legközelebbi rokonsági kapcsolatot.

Vizsgálataink eredményeként megállapítottuk, hogy Dobrava hantavírusok esetében legalább két különböző genetikai variáns fordul elő hazánkban és a vizsgált horvátországi területeken. Habár jelen vizsgálat csak molekuláris adatokat dolgoz fel, mégis megfigyelhető a vizsgált hantavírus típus gyakori előfordulása. Jelen vizsgálatunk szolgáltatta az első széleskörű molekuláris eredményeket hazánkban. Eredményeinkből arra következtetünk, hogy a vizsgálatok folytatása, illetve kiterjesztése szükségesek a jövőben is.

Vírol

Adeno- és herpeszvírusok előfordulásának felmérése ragadozók (Carnivora) mintáinak PCR-es vizsgálatával

Dandár Eszter

Szent István Egyetem, Alkalmazott zoológus szak

Témavezetők: Dr. Benkő Mária, Doszpoly Andor

Az adeno- és herpeszvírusok rendkívül elterjedtek a gerincesek törzsében. Ennek ellenére viszonylag kevés olyan bizonyíték van, ami ezt molekuláris diagnosztikai módszerek segítségével is alátámasztaná, mivel ezen módszerek megjelenése előtt elsősorban szerológiai vizsgálatok segítségével kutatták őket. Ragadozókból eddig csak két kutya-adenovírus típust mutattak ki, de ezek a vírusok más gazdafajban (róka, medve, mosómedve, bűzös borz) is előfordulnak. De húsevőkben gazdafaj-specifikus adenovírust eddig még nem találtak. Herpeszvírusokat több, evolúciós szempontból jelentős állattaxonból (puhatestűek, halak, kétélűek, hüllők, madarak, emlősök) mutattak ki. Kutatásaim céljából az emlős ragadozóknál található adeno- és herpeszvírusok vizsgálatát tűztük ki.

Vizsgálataim keretében elhullott állatok szerv-, illetve állatkerti ragadozók székletmintáiból kinyert DNS PCR módszerrel történő elemzését végeztem el. Az alkalmazott kétkörös (nested) PCR eljárásokkal az adeno- vagy herpeszvírusok polimeráz génjének egy-egy jól megőrzött szakaszát lehet felsokszorozni (kinyerni). Pozitív eredmény esetén meghatároztuk a keletkezett termékek nukleotid-sorrendjét. A kapott szekvenciák rövidegük ellenére (adenovírusok esetében kb. 300 bázispár, herpeszvírusok esetében kb. 200 bázispár) általában alkalmasak a vizsgált vírusok genus szintű besorolásra.

Összesen 73 mintából próbáltam meg adenovírust kimutatni. A minták elsősorban sakálból (*Canis aureus*) származtak, de ezen kívül vizsgáltam még tigris (*Panthera tigris*), hiúz (*Lynx lynx*), oroszlán (*Panthera leo*), párduc (*Panthera pardus*), macska (*Felis catus*), szervál (*Felis serval*), róka (*Vulpes vulpes*), farkas (*Canis lupus*), erdei kutya (*Speothos venaticus*), indiai vadkutya (*Cuon dukhunensis*), foltos hiéna (*Crocuta crocuta*), barnamedve (*Ursus arctos*), ormányos medve (*Nasua nasua*), jegesmedve (*Ursus maritimus*), vörös panda (*Ailurus fulgens*), borz (*Meles meles*) és nyest (*Martes martes*) mintákat is. Ezekből a mintákból 2 volt pozitív adenovírusra. A szekvenciák alapján két sakálban 2-es szerotípusú kutya adenovírust találtam, ami kutya-félék esetében enyhébb légzőszervi tüneteket okoz. Elsősorban emlősöket (és azon belül is kutyákat) fertőz. A vadállatok esetén feltételezem, hogy a vírust kutyáktól kapják el.

A herpeszvírusra vizsgált 73 minta közül 1 bizonyult pozitívnak. Ez a minta borzból (*Meles meles*) származott. A kimutatott vírus 1-es szerotípusú borz herpeszvírusnak bizonyult, ami a Gammaherpesvirinae alcsaládba tartozik.

Vírol

Humán patogén vírusok kimutatása magyarországi fürdővizekből

Kern Anita

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Vargha Márta, Kapusinszky Beatrix, Dr. Márialigeti Károly

A víz okozta megbetegedéseknél a kórokozó ágens kimutatása gyakran nehézségekbe ütközik. A fertőzések zöme virális eredetű. A leggyakoribb emberi kórokozók: norovírusok, enterovírusok, adenovírusok, hepatitis A vírus. Ezek a vírusok az ember emésztőrendszerében szaporodnak, kikerülve a környezetbe hosszú időn keresztül fennmaradnak a vízben és a talajban a rendkívüli rezisztenciájuknak köszönhetően. Mivel a vírusok száma a természetes vizekben gyakran alacsony, mindeztől még nem alkalmaztak rutin diagnosztikai módszereket a kimutatásukra. Ennek következtében nincs előzetes adatunk az emberi kórokozó vírusok előfordulásáról a magyarországi fürdővizekben.

A jelenlegi tanulmányban üvegyapot filtráció és szerves flokkuláció során nagy mennyiségű (10 liter) vízmintát koncentráltunk 10 mL térfogatra. A koncentrátumból mágneses gyöngy technikával vontuk ki a nukleinsavat, majd megkíséreltük a humán adenovírusok, enterovírusok és hepatitis

A vírus jelenlétének kimutatását polimeráz láncreakcióval. A koncentráció és a nukleinsav kivonás sikeres volt. Az alkalmazott módszerek megbízhatóságát ismert mennyiségű adenovírus és ECHO11 törzssel beoltott csapvízzel ellenőriztük. Összesen 24 felszíni vízmintát (Tisza) vizsgáltunk, amelyből 11 lett pozitív adenovírusra. Az enterovírusok és hepatitis A vírus kimutatására irányuló kísérleteink egyelőre negatív eredményt adtak, feltételezhető a koncentrált vízmintákban felgyülemelő inhibitorok miatt. Az adenovírus pozitív PCR termékek szekvenciáit megvizsgáltuk. A vízminták főként humán enterális adenovírusokat (Ad-40 és Ad-41) tartalmaztak. Egy minta esetén humán adenovírus C speciosekkal (Ad-2 és Ad-5) kaptunk magas hasonlósági százalékot (92% és 89%).

Vizsgálatainkból kiderült, hogy a humán enterális vírusok jelenléte nem korrelál a vízmikrobiológia vizsgálatok során kimutatott indikátor baktériumok magas csíraszámával. A szomatikus colifágok titere sem jelzi megfelelően a humán enterális vírusok jelenlétét a felszíni vizekben.

Vírol

Vaddisznóból izolált klasszikus sertéspestis vírustörzs biológiai tulajdonságainak vizsgálata házi sertésben

Lévai Réka

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Barna Tímea, Romsics Csaba

A klasszikus sertéspestis (Classical Swine Fever) a házi sertések nagy gazdasági kártétellel járó megbetegedése, melynek járványtanában a vaddisznó (*Sus scrofa*), mint rezervoár, központi szerepet játszik. Tudományos projektünk célja, hogy több európai intézet együttműködésével vaddisznók immunizálására alkalmas, szájon át adható marker vakcinát fejlesszünk a CSF ellen.

A vakcinajelölt vírustörzs biológiai tulajdonságait virulens vírustörzsekkel összehasonlítva, fertőzéses állatkísérletekben vizsgáljuk.

A 2006-os év tavaszán lezajlott állatkísérletben egy, a közelmúltban vaddisznóból izolált CSF vírustörzs (11722-WIL) karakterizálása volt a célunk. Oro-nasalisán 28, egyenként kb. 15 kg-os malacot fertőztünk $10^{3,8}$ TCID₅₀ ml⁻¹ mennyiségű vírussal. Az állatok testhőmérsékletét naponta feljegyeztük, klinikai tüneteiket pontrendszer alapján értékeltük. A kísérleti tervben meghatározott napokon valamennyi állatból vérmintát vettünk, 2-2 állatot pedig extermináltunk, majd ezekből szervmintákat gyűjtöttünk.

Vizsgálataink alapján a vírusreplikáció elsődleges szerve a mandula. Emellett a vírus az áll alatti és a bélfodri nyirokesomókból, a tímuszból, a tüdőből, a lépből és a csípőbélből volt legkorábban (a fertőzést követő 4. naptól) kimutatható. A teljes vér, a savó, illetve a szív, az izom és a vese diagnosztikai szempontból nem bizonyultak jelentősnek és megbízhatónak, ugyanis a vírus ezekben a szervekben/szövetekben nem, vagy csak későn volt kimutatható.

Vírol

Humán herpeszvírus 6 reaktiváció vizsgálata vesetranszplantáltakban

Mészáros Beáta

Debreceni Egyetem, Molekuláris biológus szak

Témavezető: Dr. Csoma Eszter

A csontvelő- és szervtranszplantációt követő immunszuppresszív terápia látens fertőzések reaktivációjához is vezethet. Az A és B variánsal rendelkező humán herepszvírus 6 (HHV-6) igen elterjedt, a felnőtt populáció szeropozitivitása meghaladja a 90 %-ot. A primer fertőzés lezajlása után a HHV-6 látens formában a szervezetben marad és immunszuppresszió esetén reaktiválódhat. Transzplantált betegekben ez súlyos, akár halált okozó következménnyel (láz, kiütés, pneumonia, hepatitis, csontvelő-szuppresszió, encephalitis, egyéb opportunista fertőzések, szervkilökődés) járhat.

Munkánk célja az, hogy kiderítsük, indokolt-e a Debreceni Egyetemen a vesetranszplantált betegek esetében rutinszerűen vizsgálni a HHV-6 reaktivációját, és ha igen, akkor kidolgozni egy olyan megbízható, klinikailag releváns, költséghatékony módszert, melyet a napi rutin diagnosztikában használhatunk.

2008 áprilisa és októbere közt 125 vesetranszplantált beteg 205 perifériás vérmintáját dolgoztunk fel. A mintákat humán cytomegalovírus (HCMV) antigén kimutatására, klinikailag indokolt esetben küldték. A HCMV reaktiváció igen súlyos kockázati tényező transzplantáltakban, aminek igazolására a perifériás fehérvérsejtekben a vírus pp65 antigénjének kimutatását alkalmazzák.

A 205 általunk vizsgált mintából 13 esetben mutattunk ki pp65 antigént. 14 minta fehérvérsejt-állományában HHV-6 specifikus nested PCR-rel pedig HHV-6-ot. A 7 HHV-6A pozitív mintából 6 plazmájában volt jelen a vírus, míg a szintén 7 HHV-6B pozitív sejtekhez tartozó plazma közül csak egyben. A két vírus együttesen csak 1 mintában volt jelen. Önmagában a HHV-6 DNS jelenléte a sejtekben nem jelent aktív replikációt, akár a látenciát is kimutathatjuk. Ha a vírus specifikus DNS megjelenik a plazmában, akkor az már utalhat a vírus szaporodására. Még biztosabb eredményt kaphatunk, ha a DNS mennyiségét kvantitatív módszerrel vizsgáljuk, illetve ha a vírusantigéneket mutatjuk ki.

Munkánk során real-time PCR-t optimalizáltunk, a kvantitatív vizsgálatokhoz szükséges plazmidok gyártása folyamatban van. Elkezdtük egy a HHV-6 egyik késői antigénjét detektáló indirekt immunfluoreszcens módszer optimalizálását is. A HCMV antigenémiára érkező, általunk vizsgált mintákban ugyanolyan arányban és nagyon hasonló klinikai tünetek megjelenésekor mutattunk ki HHV-6-ot, mint HCMV-t. Jelen munkánk és irodalmi adatok alapján indokolt a vesetranszplantált betegekben a HHV-6 reaktiváció vizsgálata.

Virol

**Magyarországon előforduló nyugat-nílusi vírusfertőzések
jelentősége és szeroepidemiológiai vizsgálata**

Szalkai Teodóra

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Ferenczi Emőke, Kaposi Tamásné

A vérszívó ízeltlábúak által terjesztett vírusbetegségek (arbovírus-betegségek) a legfontosabb fölbukkanó megbetegedések közé tartoznak. Hazánkban is ismert, hogy a szúnyogok által terjesztett Nyugat-nílusi vírus már 1972 óta előfordul, de csak az utóbbi években bizonyított, hogy akut idegrendszeri (főként agyvelő- és agyhártyagyulladás) megbetegedéseket okozhat madarakban és emlősökben.

Magyarországon a humán megbetegedések laboratóriumi diagnosztikája, - mint minden flavivírus által okozott idegrendszeri megbetegedésben, - főképp szerológiai vizsgálatokból áll, mely az Országos Epidemiológiai Központ Vírusdiagnosztikai Osztály feladata. Az ottani munkám során a hazai 1999. évi egészséges emberek savóinak szűrését végeztem el Nyugat-nílusi vírusra. A vizsgálatokat párhuzamosan vizsgáltam a kullancsencephalitis vírusára is, kizárva a nemzetségen belüli szerológiai keresztreakciók lehetőségét.

A minták feldolgozásánál a klasszikus kimutatási módszereken alapuló indirekt immunfluoreszcenciát (IF), hemagglutináció-gátlást (HAG), és bizonyos mintáknál a vírusneutralizáció módszerét alkalmaztam.

Dolgozatom a vérsavók feldolgozásának eredményeit mutatja be megyénkénti, korcsoportok és nemek szerinti felosztásban, utalva a két flavivírus eltérő magyarországi előfordulására, ugyanakkor betekintést nyújt a 2007 novemberében bemutatott TDK dolgozat után történt Nyugat-nílusi vírusaktivitás változásaira.

Vírol

Intelligens vírusok kifejlesztése idegi hálózatok jelölésére

Takács Irma, Pásti Emese
Szegedi Tudományegyetem, Általános orvos szakt

Témavezető: Dr. Boldogkői Zsolt

Célkitűzés: olyan vírusalapú jelölőrendszer létrehozása, mellyel a neuronok nemcsak anatómiai, hanem funkcionális kapcsolatait is láthatóvá tehetjük, a szinaptikus sorrendiség feltérképezésével együtt.

Kutatásainkban a herpesz vírusok közé tartozó Aujeszky-féle vírus genetikai állományát alakítottuk át rekombináns DNS technikával. A kapott vírusokat szövettenyészetben illetve élő állati szervezetben (egéren) teszteltük. A vírus detektálására immunhisztokémiai és fluorezcens módszereket alkalmaztunk.

A kiindulási vírus terjedési kinetikájának és irányának megváltozását, és specificitását sikerült elérnünk különböző gének módosításával. A virion host shut-off (VHS), korai fehérje 0 (EPO) és az ASP régió inaktiválásával a virulenciát csökkentettük. A VHS a vad vírusban a gazdasejt mRNS-ét degradálja. Az EPO gén termékének mennyisége befolyásolja, hogy a vírus látens vagy produktív fertőzési utat követ-e. A terjedés egyirányúsításának érdekében a gE és gI felszíni glükoprotein géneket ültöttük ki, és kaptunk kizárólag retrográd terjedő vírusokat. Mindezek eredményeként olyan törzseket hoztunk létre, amelyekkel fertőzve az állat nem pusztul el, vagy csak hosszabb latencia után, ezért a vírusnak több ideje van az előrehaladásra. Így több szinaptikus kapcsolatot is fel tud deríteni, továbbá csak az adott idegsejt kapcsolatai jelölődnek, és kizárólag retrográd. Láthatóvá tételükhöz különböző fluorezcens protein géneket építettünk be a genomjukba, ezzel lehetővé tettük, hogy egyidőben eltérő színű neuronok jelenjenek meg a vizsgált egéragyban, így egyszerre több struktúra is feltérképezhető. A sorrendiség feltérképezésére eltérő érési idejű fluorezcens markereket kifejező géneket építettünk be a genomba, a korábban kifejeződő (zöld) protein csak a korai fertőzési stádiumú neuronban lesz látható, míg a későbbi érési protein (piros) a már korábban megfertőződött neuronban is megjelenik. Ezzel a rendszerrel vizsgálható egy fertőzött neuron élettani állapota. Ha elektrofiziológiai mérést akarunk végezni, akkor a zöld szín jelenti a mérés kezdetét, a piros pedig a végét, mivel ekkor már nem biztos, hogy intakt a sejt. Fluorezcens kalcium szenzorok szinapszisokon keresztül neuronokba való bevitelére lehetővé teszi, hogy egyidőben sok idegsejt működését vizsgáljuk optikai módszerekkel.

A korábbi neuronjelölő eljárásokhoz képest hatékonyabb és specifikusabb vírusalapú rendszert sikerült létrehozni, amellyel nemcsak az anatómiai, hanem a funkcionális kapcsolatokat, illetve a szinaptikus sorrendiséget is láthatóvá tehetjük. Az aktivitás markerek bevitelével, szemben az elektrofiziológiai módszerekkel, egyidőben sok neuron működését vizsgálhatjuk.

Viselkedésökológia tagozat

Időpont: Április 8. 15:00

Terem: N épület, 301. terem

A zsűri elnöke: **Dr. Moskát Csaba**, tudományos főmunkatárs
Magyar Természettudományi Múzeum, MTA
Állatökológiai Kutatócsoport

tagjai: **Dr. Bókony Veronika**, tudományos segédmunkatárs
Pannon Egyetem, Limnológia Intézeti Tanszék

Dr. Liker András, egyetemi docens
Pannon Egyetem, Limnológia Intézeti Tanszék

15:00	Apari Péter	ELTE TTK	Evolúciós elmélet a mikrokimériszusra egy apa-anya-utód konfliktusban
15:20	Gyuris Enikő	DE TTK	Egyedi viselkedés verőköltő bodobácsoknál (<i>Pyrrhocoris apterus</i>)
15:40	Huszár Dóra	DE TTK	A kooperáció evolúciójának egy elhanyagolt mechanizmusa: a vak kölcsönösség
16:00	Kaholek Balázs	SZTE TTIK	Rokonsági kapcsolatok vizsgálata természetes házi veréb populáció csapatain
16:20	Kiss Dorottya	ELTE TTK	Ivararány manipuláció az örvös légykapónál – a kortikoszteronszint szerepe
16:40	Szünet		
16:50	Szegedi Anikó	ELTE TTK	A hőmérséklet és a költés időzítésének hatása a kelési aszinkroniára örvös légykapónál (<i>Ficedula albicollis</i>)
17:10	Zsarnóczai Szilvia, Vincze Krisztina	ELTE TTK	Ragadozó indukált fenotípusos válasz vizsgálata eredi béka (<i>Rana dalmatina</i>) korai életszakaszaiban

VisÖko

Evolúciós elmélet a mikrokimérizmusra egy apa-anya-utód konfliktusban

Apari Péter

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Rózsa Lajos

Magzati mikrokimérizmus jön létre, ha magzati eredetű immun- és őssejtek vándorolnak az anyába, ahol sokáig aktív sejtvonalakat hoznak létre. Vajon mit művelnek ezek a sejtek az anyában?

Erre három elmélet ismert: 1. Nem tesznek semmit; 2. Hasznosak, mert javítják a sérült anyai szöveteket vagy elpusztítják a rákos sejteket; 3. Károsak, mert autoimmun jellegű megbetegedéseket okoznak. Dolgozatomban elkülöníttem a magzat, az apa és az anya adaptív „érdekeit”, és elemzem az így kirajzolódó konfliktust. A magzattól anyába vándorló sejtek növelhetik az anyai rátermettséget, ez mindhárom fél érdeke. Azonban az anya egy "önző terhesség" révén akkor is szerezhethet apai rezisztencia-géneket hordozó magzati sejteket, ha élettani állapota nem teszi lehetővé egy terhesség kihordását. Ilyenkor a magzati sejtek átjutása után az anya elvetél. Az apa számára ez az anyai stratégia csak költségekkel jár, ezért feltételezhető valamilyen apai ellenstratégia létrejötte.

A Zahavi-féle maffia hipotézis mintájára feltételezzük, hogy a női "önző terhesség" típusú vetélést a magzati eredetű immun-sejtek megtorlással fenyegetik: vetélésre válaszul autoimmun jellegű (valójában: graft versus host) megbetegedést okozhatnak.

A ma elfogadott nézet szerint az autoimmun betegség vetélést okozhat. Ennek ellentmond, hogy az utóbbi szokott hamarabb jelentkezni. Elméletünk éppen ellenkező irányú ok-okozati összefüggést vázol: a vetélés következménye lehet az autoimmun jellegű betegség.

VisÖko

Egyedi viselkedés verőköltő bodobácsoknál (*Pyrrhocoris apterus*)

Gyuris Enikő
Debreceni Egyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Barta Zoltán

Az utóbbi években számos vizsgálati eredmény gyűlt össze arra vonatkozóan, hogy nem csak az embereknek van személyiségük, hanem számos állatfaj egyedeinek is. A személyiség egy egyszerű definíció szerint olyan összefüggő viselkedési jellegek csoportja, amely különböző szituációkban is megnyilvánul (Carere 2005). Ezek a viszonylag állandó viselkedési jellemzők jól észrevehető viselkedési mintázatokkal ruházzák fel az egyedeket.

Max Wolf és munkatársai (2007) a közelmúltban bemutatott modellje magyarázatot ad az egyedi különbségekre egy populáción belül, ahol az egyedek az aktuális és későbbi szaporodás közötti optimalizálás érdekében más-más stratégiát választanak egy adott szituációban. Továbbá választ ad e kapcsolt viselkedések evolúciójára egy adott élethelyzeten belül és között, és arra, hogy ezek a viselkedési jellegek gyakran kapcsoltak.

Kísérletünkben ezt a modellt teszteljük, a természetből befogott verőköltő bodobács (*Pyrrhocoris apterus*) két megjelenési formájánál, azaz a szárnyas és szárnyatlan alakoknál, hiszen számos kutató (pl. Socha 1993) kimutatta már, hogy e két eltérő forma különböző életmenet stratégiákat követnek.

Vizsgálatunkban egy olyan viselkedési tesztet használtunk, ahol az állatokat blokkos elrendezés alapján egy kifutóban futattuk, rögzítve az állat útvonalát webkamera segítségével, majd a felvételeket elemeztük. Kísérletünkkel sikerült megmutatnunk, hogy a verőköltő bodobács (*Pyrrhocoris apterus*) két alakja különbözik viselkedésükben, ezzel alátámasztva Wolf-ék (2007) modelljét. Tesztjeink során viszont csak a nőstényeknél figyelhető meg különbség a szárnyas és szárnyatlan formák között. E szerint a szárnyas nőstény egyedek pöccintésre gyorsabban reagáltak, mint a szárnyatlanok, azaz bátrabbak, illetve több dugót látogattak, alaposabban felfedezve így az új környezetüket. Ez azért lehet, mert a nőstényre, mivel a hímnél többet fektet a szaporodásba a nagy és értékes petecsomó révén, nagyobb hatással lehetnek az életmenetbeli különbségek.

VisÖko

A kooperáció evolúciójának egy elhanyagolt mechanizmusa: a vak kölcsönösség

*Huszár Dóra
Debreceni Egyetem, Biológia szak*

Témavezető: Dr. Barta Zoltán

A biológia és társadalomtudományok egyik régóta megválaszolatlan kérdése a fajon belüli kooperáció kialakulásának és létezésének problémája. Hogyan jöhet létre a kompetíción alapuló természetes szelekció által önzetlen viselkedés, mely csökkenti az önzetlen egyed saját reprodukív sikerét?

Trivers (1971) úttörő cikke óta a kölcsönösséget tartják az egyik legfontosabb evolúciós mechanizmusnak, mely lehetővé teszi az állatok közötti kooperáció kialakulását. Mialatt számtalan elméleti kutatás próbálta bizonyítani különféle kölcsönösségi típusok létezését, és számos elméleti modell eredményes is volt, addig alig néhány példát sikerült megfigyelni a természetben, melyek valóban állatok közötti kölcsönösségen alapultak. Történt mindez annak ellenére, hogy számtalan állatfajon végeztek kísérleteket, megfigyeléseket a gerinctelenektől kezdve egészen a főemlősökig. Mi okozza vajon a már-már zavaró ellentmondást elmélet és tapasztalat között? Lehetséges, hogy a kölcsönösség csupán néhány elméleti biológus intellektuális játéka, melynek nincs sok köze a gyakorlathoz?

Az ellentmondás oka talán az, hogy a kölcsönösség azon fajtái, melyeket eddig vizsgáltak, fejlett memóriát és kognitív képességet igényelnek, emiatt bonyolultak és költségesek lehetnek az állatok számára. Egy ez idáig kevésbé kutatott mechanizmus, az úgynevezett vak kölcsönösség megoldás lehet a problémára azáltal, hogy nem igényel fejlett memóriát, se egyedfelismerő képességet, és mely ezáltal segíthette a kooperáció kialakulását genetikailag nem rokon, idegen fajtársak között.

A célom, hogy bemutassam e kevesek által ismert kölcsönösséget, és hogy rávilágítsak a populáción belüli változatosság fontosságára, valamint hogy egy genetikai algoritmuson alapuló modell keretein belül megvizsgáljam e két tényező szerepét a kooperáció kialakulásában.

Azt tapasztaltuk, hogy a vak kölcsönösség egy egyszerű, belső állapoton nyugvó mechanizmus, mely stabil kooperáció kialakulását teszi lehetővé, ha a változatosság adott. Nem szükséges hozzá fejlett értelmi képesség, nagyon hosszú interakció, és viszonylag nagy (20-25 fős) csoportokban is működik.

VisÖko

**Rokonsági kapcsolatok vizsgálata természetes házi veréb populáció
csapatain**

Kaholek Balázs
Szegedi Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Szabó Krisztián, Dr. Pénzes Zsolt

Szociális fajok vizsgálatainak célja gyakran az adott csapat vagy csoport egyedei közti kölcsönhatások feltárása (dominancia, versengés a forrásokért, stb), melyet a rokonsági viszonyok alapvetően befolyásolhatnak.

A madarak szociális viselkedése is rendkívül sokféle, ezért gyakran objektumai az ilyen jellegű vizsgálatoknak. Azonban kevés vizsgálat foglalkozik a rokonszelekció kérdésével madarak esetében, noha a szociális viselkedési mintázatok megértéséhez alapvető jelentőségű lenne ezen mechanizmusok minél teljesebb megértése.

Célunk házi verebek téli csapatainak egyedeit vizsgálva rokonsági viszonyaik feltárása, becslése. A faj monogám, de télen csapatokat alkot.

A terepi munkák során mind felnőtteket, mind fiatalokat és fiókákat is befogtunk, vért vettünk tőlük, majd egyedi jelzéssel (színes gyűrű) láttunk el. Két télen át megfigyeltük a csapatokat, megállapítottuk azok összetételét.

Az egyedek közötti rokonsági kapcsolatok becslésére mikroszatellita markereket használtam. Összesen 11 markert optimalizáltunk, ebből 7 bizonyult elegendően variábilisnek és ismételhetőnek, a további vizsgálatok ezekkel történtek. A rokonsági fok becslése maximum likelihood módszerrel történt, az MLRelate szoftver segítségével. A módszer megbízhatóan becsülte a rokonsági fokot (ismert genealógiájú tojó-utód párokkal tesztelve). Összesen 197 egyedet genotipizáltunk.

Eredményeink azt mutatják, hogy a csapatokon belül nem nagyobb a rokon egyedek aránya, mint a csapatok között. Mindez lehet a csapatalkotáskor fellépő diszperziós mechanizmusok következménye. Ugyanakkor a madarak jelentős részének van legalább egy közeli rokona a csapatársai között, ami lehetőséget teremthet a rokonok megkülönböztetésére a szociális interakciók során (például potyázás, társak követése).

VisÖko

Ivararány manipuláció az örvös légykapónál – a kortikoszteronszint szerepe

Kiss Dorottya

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Rosivall Balázs

Az utóbbi évtized számos kutatási eredménye alátámasztja, hogy különböző mértékben térülhet meg a hím és nőstény utódokba fektetett energia a szülők és a környezet tulajdonságainak függvényében. Így a szülőknek adaptív lehet, ha az utódaik ivara nem véletlenszerűen alakul. Az ivararány szabályozásának mechanizmusa máig nem ismert, de több elmélet született a lehetséges folyamatról.

A madarak esetében a feltételezések szerint két szinten történhet a fiókák ivarának befolyásolása: az elsődleges ivararány a tojásrakás előtt, a másodlagos ivararány a tojásrakás után alakul ki. Az anyai hatások vizsgálata során előtérbe került az anyai szteroidhormonok lehetséges szerepe az ivararány szabályozásában.

Az ivari hormonok mellett a madarak jellemző stresszhormonjának, a kortikoszteronnak a szintje is érzékenyen reagál a tojót érő környezeti hatások változásaira, mint például a táplálékellátottság, a tojó kondíciója, vagy párjának attraktivitása.

Eddigi vizsgálatok fogságban tartott madaraknál mutattak ki összefüggést a tojó természetes kortikoszteronszintje és a fiókák elsődleges ivararánya között, míg egy vadon élő fajnál csak a tojó kísérletesen megnövelt kortikoszteronszintje eredményezett szignifikánsan több tojó fiókát. Kutatásunk során vizsgáltuk, hogy milyen tényezők hatnak egy vadon élő madárfaj, az örvös légykapó kortikoszteronszintjére és az ivararányra, illetve a kortikoszteronszint hatással van-e a fiókák ivararányára.

Eredményeink azt mutatják, hogy az elsődleges ivararányt nem befolyásolta a tojók természetes stresszhormonszintje. A tojó tojásrakás alatti kortikoszteronszintje változott a tojások lerakása során, a fiókanevelés alatti hormonszint pedig összefüggött a madarak kondíciójával és méretével.

VisÖko

A hőmérséklet és a költés időzítésének hatása a kelési aszinkroniára örvös légykapónál (*Ficedula albicollis*)

Szegedi Anikó

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezető: Dr. Rosivall Balázs

Madaraknál gyakran előfordul, hogy a fiókák nem egyszerre kelnek. Ennek következtében az utolsó fiókák fejlődésük során általában hátrányt szenvednek. A jelenség mégis széles körben elterjedt, különösen fészeklakó madarak körében.

Ennek magyarázatára számos hipotézis született, melyek két fő csoportba sorolhatóak. Az egyik nézet szerint a tojó azért kezd a fészek teljessé válása előtt inkubálni, hogy a fiókák közt mérethierarchia alakuljon ki. A hipotézisek másik csoportja szerint az időnyerés miatt korán elkezdett inkubáció következménye az aszinkronia.

Az eddigi vizsgálatok alapján az örvös légykapónál az utóbbi nézet látszik valószínűnek. Ezért vizsgálatunk során két ide tartozó hipotézist teszteltünk a hőmérséklet, a költés időzítése és a kelési aszinkronia közötti összefüggés vizsgálatával. A „hurry up” hipotézis szerint a késői fészkek esetén minél előbb érdemes kikeltetni a fiókákat, hogy az elsők minél jobb kondícióban repülhessenek ki. A tojás-életképességi hipotézis azt tartja, hogy a tojások életképességének romlása magas külső hőmérséklet esetén az, ami szükségessé teszi a korai inkubációt. Ezek alapján késői költés és magas környezeti hőmérséklet esetén az aszinkron kelés adaptív lehet.

Eredményeink szerint mindkét vizsgált tényező (a környezeti hőmérséklet és a költés időzítése) hatással van az aszinkronia mértékére. Ez azt sugallja, hogy a kelési aszinkronia evolúcióját és a természetben fellépő változatosságát több hatás alakította ki és befolyásolja ma is.

VisÖko

Ragadozó indukált fenotípusos válasz vizsgálata erdei béka (*Rana dalmatina*) korai életszakaszaiban

Zsarnóczai Szilvia, Vincze Krisztina
Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológus szak

Témavezetők: Dr. Hettyey Attila, Dr. Török János

A ragadozó elleni védekezés egyik útja a fenotípusos plaszticitás kifejeződése, amely lehetővé teszi az adott genotípushoz tartozó morfológiai, élettani és viselkedési jellegek megváltozását a környezetben található ragadozók függvényében.

Vizsgálatunk során arra kerestük a választ, hogy az erdei béka korai életszakaszú egyedeinél milyen plasztikus változások mennek végbe különböző típusú ragadozók hatására. Szabadföldi mezokozmosz kísérleteket végeztünk, amelyek során szabadon mozgó, vagy ketrecbe zárt ragadozókat tartottunk egy víztérben erdei béka petéivel, majd a kikelő ebihalakkal egészen azok átalakulásáig.

Ragadozóként lópiócát (*Haemopsis sanguisuga*), óriásszitakötő (*Anax imperator*) lárvát, viziskorpiót (*Nepa* sp.) és a pettyes gőtét (*Triturus vulgaris*) használtunk. Vizsgáltuk, hogy a szabadon úszó ragadozók, milyen fejlettségi stádiumig és milyen hatékonysággal fogyasztották a petéket, majd az ebihalakat. Ezzel összefüggésben ketrecbe zárt ragadozók jelenlétében meghatároztuk, hogy az egyes ragadozók hogyan befolyásolták az ebihalak testalkatát, méretét és viselkedését különböző fejlettségi szakaszokban. Vizsgálatunkból kiderült, hogy a különböző ragadozók más-más fejlettségi stádiumig és eltérő rátával fogyasztják az erdei béka lárváit. A ragadozók mellett nevelt ebihalak morfológiája különbözött a kontroll egyedekétől. A viselkedésben szintén eltérések adódtak, predátor jelenlétében csökkent az aktivitás. Mindezen fenotípusos válaszok összhangban voltak az egyes ragadozótípusok 'veszélyességével' is.

Egy kiegészítő kísérlet során szabadon úszó ragadozók jelenlétében teszteltük az előzőleg beketrevezett ragadozók mellett nevelt, illetve a kontroll ebihalak túlélését. A kísérletből kiderült, hogy a ragadozó-indukált fenotípussal rendelkező ebihalak nagyobb eséllyel élnek túl a kontroll ebihalakhoz képest.