



XXVIII. OTDK BIOLÓGIA SZEKCIÓ

Program
és
összefoglalók



Debrecen, 2007. április 4–6.



ALKALMAZOTT ÖKOLÓGIA-ÖKOTOXIKOLÓGIA TAGOZAT

ALKÖK-ÖKOTOX-I

Ellenőrző vizsgálatok a nyírbogdányi Bogdány Petrol Kft. szennyvíztisztító rendszerében

Ágoston Nikoletta

III. kiegészítő biológia

DE TTK Alkalmazott Ökológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Lakatos Gyula egyetemi docens,

Czudar Anita, PhD hallgató

A petrol-kémiai szennyvizek tisztítása és a keletkező termelési hulladékok kezelése, biológiai ártalmatlanítása és hasznosítása Magyarországon számos szempontból továbbra sem megoldott, és nem maradhat el a környezetvédelmi tevékenység folyamatos fejlesztése és ellenőrzése, ill. a sokoldalú szakmai értékelése.

Az Alkalmazott Ökológiai tanszék munkatársai már több, mint 20 éve végznek ellenőrző vizsgálatokat a Bogdány Petrol Kft. szennyvíztisztító rendszerében. Ezekben a vizsgálatokban két éve veszek részt.

A vizsgálatok a helyszínen és laboratóriumban folynak. 2004-ben, ill. 2005-ben három időpontban, évszakonként vettünk víz, zoo-, plankton és nyáron, ill. ősszel az élőbevonat, valamint üledék (epipelon) mintát. A szerves szennyezők koncentráció értékei mellett különös tekintettel voltam az oxigén telítettség (%) értékeire, az oldott oxigén koncentrációra, ill. az előforduló kationok mennyiségére.

Az oxigén telítettség (%) eredményei alapján megállapítható, hogy a szennyvíztisztító rendszer oxigén ellátottsága kedvező és az egész rendszerre az aerobikus állapot a jellemző.

A kationok vonatkozásában az a jellemző, hogy a nátrium a domináns ion. A nyers szennyvíz kation összetételében a nátrium és a kalcium ingadozása jelentős. A nátrium és a kalcium után a harmadik helyet a magnézium foglalja el. A mikro-ionok, ill. nehézfémek közül a vas, szinte mindig jelentős koncentrációban kimutatható.

A számolt tisztítási hatások alapján megállapítható, hogy az egész tisztítórendszer működése jó, de mindezek ellenére is fontosnak tartom a szennyvíztisztító rendszer műszaki-ökológiai struktúrájának és működésének további ellenőrzését, a gazdaságosság és az ökológiai elvek betartásával, ill. az EU VKI előírásnak és elvárásnak való megfeleléssel.

ALKÖK-ÖKOTOX-2

Nehézfémek útja a táplálékláncban az Eger-patak mentén (Hg, Cd, Pb, Mn)

Bakondi Beatrix és Kardos Emőke
biológia-kémia tanár (2006)
EKF TTK Állattani Tanszék
témavezető: Dr. Milinki Éva főiskolai tanár

Dolgozatunkban elsőként elméleti áttekintést adunk a vízminőség és vízszennyezés vizsgálatának szempontjairól, és a bioindikációs vizsgálatok módjairól. Jellemezzük a nehézfémek élettani hatását. Szólunk az optikai módszerekről, azon belül a nehézfémek vizsgálatánál gyakran alkalmazott lángatomabszorpciós spektrometriáról. Részletezzük a mérésünk menetét a gyűjtéstől elkezdve a minták előkészítésén át az eredmények értékeléséig.

Vizsgálataink során az Eger-pataknak a táplálékláncban központi helyet elfoglaló élőlényeiben a következő nehézfémek vizsgáltuk: Hg, Cd, Pb, Mn. A pataknak két, különböző terheltségű területén vettünk mintákat a vízből, az üledékből valamint gyűjtöttünk élőlényeket, és vízbe hullott faleveleket. Indikátor-szervezetként három taxont választottunk: tegzes lárvákat, közönséges bolharákat és piócákat. A vízmintákat helyben savanyítva (nátrium-acetát, EDTA) konzerváltuk, az üledékmintákat szárítás után két különböző extrahálószerrel kezeltük, illetve az élőlényeket szintén szárítottuk, majd savas feltárásnak vetettük alá. Ezt követte a mérés, majd az eredmények értékelése.

Következtetésünk szerint nincs jelentős különbség a város előtti szakasz, illetve a belváros patak-szakaszának szennyezettsége között, bár a belvárosi szakasz némileg szennyezettebb. A két extrahálószer mobilizál képessége a vizsgált nehézfémekre vonatkozóan igen eltérő, és nagy változatosságot mutat.

Meg kellett állapítanunk továbbá, hogy az általunk választott indikátor-szervezetek ezen nehézfémek vizsgálatára csak kevésbé alkalmasak, mivel akkumulációs képességük ezekre vonatkozóan alacsonyabb az elvárhatónál.

ALKÖK-ÖKOTOX-3

Fitoremediáció alkalmazása a gyakorlatban (kunszentmártoni példa)

Csatári István

III. környezettudomány-ökológus

DE TTK Alkalmazott Ökológiai Tanszék

témavezető: Dr. Lakatos Gyula egyetemi docens

Napjainkban az emberi tevékenység következtében a környezet egyre nagyobb mértékben szennyeződik, és ez alól sajnos a 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 fitoremediáció az egyéb főként kémiai eljárásokkal szemben egy olcsó, hatékony, a világ szinte bármely területén kivitelezhető módszer. A dolgozat keretében krómmal szennyezett terület, a Pannónia Rt. kunszentmártoni börgyárának egykori szennyvíz ülepítő tórendszerének vegetációját tanulmányoztuk Cr-, Pb-, Cu-, Mn-, Fe- akkumulációs szempontból, a fitoremediációra potenciálisan alkalmas növényfajok megismerése érdekében.

A terület közvetlenül a börgyár mellett, a Körös folyó egykori árterén helyezkedik el, ma a Körös-Maros Nemzeti Park igazgatási területéhez tartozik. A mintavételezés 2003. 09. 01-én és 2005. 08. 11-én történt. Helyszíni méréseket végeztünk, illetve meghatároztuk a terület flórájának fajösszetételét. A laboratóriumban további vizsgálatokra került sor.

A kutatás keretében vegetáció vizsgálatot végeztünk, melyből kiderült, hogy a terület flórája meglehetősen diverz, így több növényfajt tudunk vizsgálni. Meghatároztuk a mintavételi terület üledékének nehézfém-koncentrációját, ezáltal igazoltuk, hogy a terület nagymértékben szennyezett, ezért fitoremediációs vizsgálatokra és kezelésre alkalmas. Meghatároztuk továbbá a növényfajok egyedeinek egyes frakcióiban a különböző nehézfémek koncentrációit. Különbséget tettünk a növények között az alapján, hogy mely frakcióikban akkumuláltak a különböző nehézfémeket. Így két csoportba tudtuk besorolni a növényeket. Az egyik a gyökérakkumulálók, a másik a hajtásakkumulálók csoportja. A kutatás végső célja a fitoremediációra alkalmas növényfajok kiválasztása volt. Összefoglaltuk a kutatás eredményeit, illetve az ismereteket, ezáltal a fitoremediációban felhasználható növényfajokat és azok természetes állományait ki tudtuk választani.

ALKÖK-ÖKOTOX-4

Talajeredetű termofil gombák *in vitro* növekedése, mint potenciális ökotoxikológiai paraméter

Cselényi Levente

V. környezetmérnök

SzIE Mezőgazdasági- és Környezettudományi Kar

témavezető: Dr. Dobolyi Csaba egyetemi docens

A hulladékminősítés rendszerében növekedik az igény az ökotoxikológiai tesztek egyre szélesebb skálája iránt. Törekedni kell arra, hogy a talajbaktérium *Azomonas agile* és *Pseudomonas fluorescens* mellett talajból származó eukariota mikroorganizmus, lehetőleg valamely gomba életfunkcióján alapuló ökotoxikológiai tesztet is rendszerbe állíthassunk. Felgyorsult metabolizmusuk alapján a termofil gombák valamelyik faja alkalmas lehetne a hiány pótlására.

Felmérést készítettünk a hazai természetes és mezőgazdaságilag művelt talajokban élő termofil gombafajok előfordulásával kapcsolatban. Tenyésztéses vizsgálatokkal, malátakivonat agar és Martin-féle agar felhasználásával három természetes és négy mezőgazdaságilag művelt talajból összesen hat termofil gombafaj tizennégy törzset tenyésztettük ki. A *Myceliophthora thermophila* és a *Malbranchea cinnamomea* három-három, a *Thermomyces lanuginosus* és a *Mucor pusillus* két-két, a *Chaetomium thermophile* a *Torula thermophila*, a *Talaromyces emersonii* és a *Thermoascus aurantiacus* egy-egy talajból tenyésztett ki.

Szintén tenyésztéses vizsgálattal teszteltük valamennyi kitenyésztett faj egy-egy törzsének higany és kadmium tűrését. A toxikus nehézfém ionokkal szembeni tolerancia a vizsgált fajok tekintetében és a táptalaj függvényében eltérést mutatott. A higany már 0,2 mM/L, a kadmium pedig 0,5 mM/L koncentrációban maximálisan gátolta valamennyi vizsgált törzs növekedését. A tömlősgombák fajai ellenállóbbnak, míg a konídiumos fajok kevésbé toleránsnak bizonyultak a toxikus nehézfém ionok jelenlétében, a higannyal szemben legérzékenyebb a *Myceliophthora thermophila*, a kadmium ionnal szemben a *Malbranchea cinnamomea* egy-egy törzse volt.

Ökotoxikológiai teszt modellezéseként két, szén-hidrogénnel szennyezett talaj, valamint toxikus fémekkel kísérletesen szennyezett talajok kivonataival mérgezett tápagaron a növekedésgátlás a releváns koncentráció-intervallumban mindkét faj esetében jól regisztrálható volt.

ALKÖK-ÖKOTOX-5

Az atrazin bontása mikrobiális úton

Gál László

V. biológus

SZTE TTK Biotechnológiai Tanszék.

témavezető: Dr. Kesserű Péter tudományos munkatárs

konzulens: Dr. Rákhelyné dr. Perei Katalin egyetemi adjunktus

Az atrazin úgynevezett szelektív szisztematikus növényvédőszer. Alapját egy triazin gyűrű adja, melyhez izopropil és etil csoportok kapcsolódnak. Hatásmechanizmusát tekintve igen agresszív fotoszintézis gátlószer, a legnagyobb mennyiségben kukorica gyomtalanítására használják világszerte. Az 1992-95-ös évektől kezdték nemzetközileg szabályozni kijuttatásának mennyiségét.

Az atrazint hormonhatású kémiai szennyezőként tartják számon. Már 0,1 µg/l-es koncentrációnál a kifejlődő békák (*Xenopus laevis*) 16-20 %-ának vagy kettőnél több ivarszerve volt, vagy egyszerre rendelkeztek petefészkekkel és herével (hermafroditizmus). A halak (elsősorban lazac) esetében is megfigyeltek feminizációt. Humán sejtvonalakon végzett kutatások pedig kimutatták, hogy az atrazin fokozza az androgén hormonok (tesztoszteron, androsztendion) ösztrogénné (ösztradiollá, ösztroinná) való átalakulását, még hozzá oly módon, hogy az növeli a reakciót végrehajtó enzimfehérje (az aromatáz) mennyiségét. Ez a mechanizmus minden gerinces élőlényre jellemző.

Jelen munka keretein belül az atrazin mikrobiális lebontásának vizsgálatát tűztük ki célul. Az izolálási lépések elvégzése során elsősorban olyan baktérium törzsek, illetve konzorciumok kinyerését szerettük volna elérni, melyek képesek az atrazin mikrobiális degradációjára. Ennek érdekében két különböző szennyezett területről gyűjtöttünk mintákat. Elsőként egy atrazinnal rendszeresen kezelt makói kukoricaföld, majd egy, előzetesen növényvédőszer raktárként használt terület talajából származó mintákat dolgoztuk fel. Mindkét talajban találtunk a vegyszer bomlását elősegítő baktériumokat, illetve konzorciumokat, melyek felnőttek csak atrazint, mint egyedüli szénforrást tartalmazó táptalajon is. A későbbiekben ezeket dúsítottuk, majd a hatékony törzseket a későbbi felhasználhatóság érdekében deponáltuk. A mikrobák hatékonyságát enyhén savas környezetben (pH=4), és huminsavak jelenlétében is vizsgáltuk. Jelzett atrazin molekulák alkalmazásával bizonyítottuk, hogy több kinyert konzorcium képes az atrazin szén-dioxidig történő teljes bontására.

Eredményeink biztatóak, így további célunk az egyes törzsek beazonosítása, és a jól működő baktériumok, baktériumközösségek fenntartásán túl egy valós, működő technológia kidolgozása.

Hígtrágya bakteriális kezelése

Hodula Orsolya

V. biológus

SZTE TTK Biotechnológiai Tanszék

témavezető: Dr. Kesserű Péter tudományos munkatárs

konzulens: Dr. Rákhelyné dr. Perei Katalin tudományos munkatárs

A nitrogén-körforgás természetes egyensúlya az emberi beavatkozásnak köszönhetően felborult. Az emberi beavatkozás egymagában évről-évre közel ugyanannyi nitrogént juttat a talajba, mint minden egyéb természetes folyamat együttvéve. Mindezért a nem kielégítően működő szennyvíztisztító üzemek, a csatorna-hálózatra nem kötött közművek és a műtrágyázáson alapuló nagyüzemi mezőgazdaság additív hatásán túl a nagy mennyiségű hígtrágyát kibocsátó állattelepek tehetők felelőssé.

A természetbe visszajutott nitrogén mennyiségének csökkentésére több módszer is kínálkozik. Az egyik megközelítési mód a már talajban lévő nitrát tartalom csökkentésére irányuló módszereket foglalja magába. A már kialakult probléma kezelésén kívül vannak megelőzést célzó módszerek is, ezek lényege a kibocsátott anyagok nitrogén tartalmának visszaszorítása.

Munkánk során azt szeretnénk elérni, hogy a nitrogén természetes körforgásába visszahelyezett hígtrágya nitrogén és szerves anyag tartalmát olyan szintre csökkentsük, hogy a környezet számára ne jelentsen megterhelést ill. szennyezést. A hígtrágya nitrogén tartalmának csökkentése egyúttal a szükséges területigény csökkenését is maga után vonja, hiszen a környezetbe juttatható nitrogén mennyisége szabályozva van, ennek határértéke:

170 kg/ha/év. Gyakori jelenség, hogy az állattenyésztők terület hiányban szenvednek, egy jól működő rendszerrel ezt a problémát orvosolni lehetne.

Hígtrágyából számos baktérium törzset izoláltunk, majd e törzsek nitrogén ill. szerves anyag tartalom csökkentő hatását vizsgáltuk. Az izolált különböző baktérium törzseket laboratóriumi körülmények között sterilizált hígtrágyába oltottuk. A steril körülmények lehetővé tették az egyes baktérium törzsek ill. későbbiek során a mesterségesen létrehozott konzorciumok vizsgálatát.

Bakteriális kezeléssel jelentős mértékben csökkenteni tudtuk a hígtrágya oldott nitrogén, össznitrogén (TN) és összszén (TC) tartalmát. A két hetes kezelési ciklus végére a kontrollként vizsgált hígtrágyában az oldott nitrogén mennyisége 100%-ról csupán 80%-ra csökkent, bakteriális kezeléssel azonban sikerült ezt az értéket 20%-ra redukálnunk.

ALKÖK-ÖKOTOX-7

A Bogdány Petrol Kft. szennyvíztisztító rendszerének működés ellenőrzése 2004-2005-ben

Szemerédi Szilvia

V. biológus

DE TTK Alkalmazott Ökológia Tanszék

témavezetők: Dr. Lakatos Gyula egyetemi docens

Czudar Anita PhD hallgató

Az olajipari szennyvizek tisztításának megoldása, a tisztítási hatásfok fokozása és az olajos iszap kezelése, ártalmatlanítása hazánkban is a vízvédelem, a környezetvédelem egyik sürgős és fontos feladata. A vízmintákból a DE Alkalmazott Ökológia Tanszék laboratóriumában üvegszálas membránfilteren való szűrés után metanolos kioldással meghatároztuk a tavi vízminták planktonikus klorofill-a tartalmát, valamint meghatároztuk a lebegőanyag tartalmát, a szabad szén-dioxid koncentrációt, a szabad- és összes-lúgosságot, amiből a karbonát és a hidrogén-karbonát koncentrációt számoltuk. Az anionok közül a klorid és a szulfát tartalom meghatározását is elvégeztük.

A foszforformák közül az orto-foszfát és az összes foszfor analizését végeztük el. A nitrogénformák közül a nitrit, nitrát, ammónia (szervetlen kötésű) és K-N (szerves kötésű) nitrogén koncentrációját határoztuk meg és a kapott adatokból számoltuk az összes szervetlen-, szerves- és összes nitrogén értékeket, ill. megszerkesztettük a nitrogén spektrumot, valamint számoltuk az N/P arányt. A vízmintákat extraháltuk és uv-ban történő fotometrálással (Shimadzu 265 F65W fotométer) határoztuk a szerves extrakt (olaj) tartalmát.

Méréseink folyamán értékeltük a nyers szennyvíz minőségét és az előkezelt szennyvíz hatását a tőrendszer működésére. Tanulmányoztuk a tisztítórendszer vízkémiai és biológiai állapotát, ill. azok folyamatait. A belső tisztító egység semlegesítő és pufferoló hatása, a megfelelő üzemvitel alapján mindkét évben érvényesült. A szabad CO₂ és a lúgosság értékek összhangban vannak a pH adatokkal. Az egész tisztítórendszerre a csökkenő foszfor ellátás állapítható meg. Az olaj eltávolítási hatásfok jobb az előző években számoltaknál. A tisztítórendszer elfolyó vizében alig haladja meg a 0,4 mg/L koncentrációt.

További vízkémiai vizsgálatokat szeretnénk végezni, annak érdekében, hogy a Lónyai csatorna Tiszába visszakérülő vízkészlete minél tisztább és jobb minőségű legyen, ezen kívül továbbra is vizsgálni szeretnénk, hogy a tisztítórendszer pufferoló hatása a következőkben is megvalósul-e a szükséges, az előírt határértékeknek megfelelően.

A szulfát-megvonás hatása békalencsefajok Cr (VI) érzékenységére

Kiss Tibor (2006), Zádori József V. biológus

DE TTK Növénytani Tanszék

Témavezetők: Dr. Mészáros Ilona egyetemi docens, Oláh Viktor PhD hallgató

Az antropogén kibocsátások során környezetbe kerülő króm-szennyezés jelentős része bejut a felszíni vizekbe, ahol különösen a Cr (VI)-forma jó vízoldhatósága és erős toxicitása miatt veszélyeztetheti a vízi életközösségeket. Az egyre részletesebb vizsgálatok ellenére a Cr (VI) felvételének és hatásainak pontos mechanizmusai még részleteikben nem tisztázottak. A különböző kutatások eredményei alapján valószínűsíthető, hogy a Cr (VI) más, esszenciális tápelemek felvevő csatornáin keresztül jut be a tápláléklánc alapját jelentő élőlényekbe. A szerkezeti sajátosságok miatt a Cr (VI) a növényi sejtbe kromát-ionként (CrO_4^{2-}) legvalószínűbben a szulfát-ionok (SO_4^{2-}) felvételei helyein jut be.

Célunk két, hazánkban elterjedt békalencse-faj, a *Lemna gibba* L. és a *Lemna minor* L. Cr (VI)-érzékenységének összehasonlítása, illetve az érzékenységnek a közeg szulfáttartalmától való függésének vizsgálata volt.

A vizsgálatokhoz a *L. gibba* és a *L. minor* steril tenyésztéseit használtuk. A tenyészteteket 7-10 napos, sztatikus tesztek során eltérő szulfát-koncentrációjú ($0,1; 0,05; 0,01 \text{ mM SO}_4^{2-} \text{ l}^{-1}$), $0,1 \text{ mM l}^{-1}$ koncentrációjú Cr (VI)-ot tartalmazó, 1/2-es erősségű Hutner-tápoldaton neveltük. A hatások jellemzésére a tenyészetek növekedési paramétereinek változását, illetve a kezelések végén mért klorofill fluoreszcencia indukció paramétereit vettük alapul.

Az eredmények alapján megállapítottuk, hogy a tesztekben alkalmazott közeg szulfátkoncentrációja eltérő mértékben befolyásolta az egyes fajok tenyészteteinek fejlődését és fiziológiai állapotát. A *L. gibba*-kultúrák esetében a részleges vagy a csaknem teljes szulfátmegvonás önmagában is jelentősen befolyásolta a tenyészetek növekedését, az eltérő szulfát/kromát arány azonban nem okozott eltérést az egyes tenyészeteknél. A *L. minor*-kolóniák fejlődését sem a szulfát részleges, sem a gyakorlatilag teljes megvonása nem gátolta a tesztek időtartama alatt. A krómkezelések növekedést gátló hatása azonban a közeg szulfát/kromát arányától függő mértékűnek mutatkozott.

Az eredmények alapján a két békalencse-faj Cr (VI)-érzékenységében megmutatkozó különbségek egyik lehetséges oka a növények szulfátfelvételi hatékonyságának eltérése lehet.

ÁLLATÉLETTAN- ÉS SZERVEZETTAN TAGOZAT

ÁLLÉL-1

A peroxinitrit szerepének vizsgálata a prekondicionálás korai antiarrhythmias hatásában

Juhász László és Kiss Attila

V. biológus

SZTE TTK Összehasonlító Élettani Tanszék

témavezető: Dr. Végh Ágnes egyetemi tanár

konzulens: Dr. Toldi József egyetemi tanár

Korábbi kísérleteink alapján ismert, hogy a nitrogén oxid (NO), mint trigger és mediátor, szerepet játszik a prekondicionálás (PC) korai és késői antiarrhythmias hatásában. Az ischaemia/reperfúzió során keletkező, NO és szuperoxid gyökök reakciója azonban citotoxikus peroxinitrit (PN) képződést eredményezhet, bár a legújabb vizsgálatok eredményei arra utalnak, hogy a kis koncentrációban alkalmazott PN, a PC-hoz hasonlóan, csökkenti az ischaemiás károsodás mértékét.

Kísérleteinkben azt vizsgáltuk, hogy az exogén módon (intracoronáriás infúzióban) 100 nM koncentrációban alkalmazott peroxinitrit milyen módon befolyásolja a bal koszorúér artéria descendens anterior ágának (LAD) 25 perces okklúziója ill. reperfúziója során megjelenő kamrai arrhythmiasokat, altatott kutyában. Kloralóz-uretán keverékével altatott kutyák három csoportjában a kísérletek elején 5 percen keresztül 8,4 pH-jú fiziológiás sóoldatot adtunk intracoronáriásan. Ezt követően a kontroll csoportban (K, n = 10) állatokban a LAD-ot 25 percre lefoglaltuk, amelyet gyors reperfúzió követett, míg a másik két csoportban ezt megelőzően kétszer 5 perces okklúziót végeztünk (PC n = 10), illetve ugyanilyen időtartamú peroxinitrit infúziót (PN n = 8) adtunk. Néhány kutyából az okklúzió végén szövetmintát vettünk, amelyekből Western blot analízissel mértük a keletkezett 3-nitrotirozin mennyiségét.

A kontroll csoporthoz képest, mind a PC csoportban, mind a PN kezelt állatokban a 25 perces okklúzió alatt megjelenő kamrai extrasystolék és (ES: 296 ± 84 vs. 83 ± 28 és $ES 84 \pm 54$) kamrai tachycardiás epizódok száma (VT: $9, 6 \pm 3, 4$ cs. $1,9 \pm 1,05$ és $1,9 \pm 1,67$) valamint a kamra fibrilláció (VF: 50 % vs. 0 % és 13%) gyakorisága szignifikánsan csökkent. Szemben a kontroll csoporttal, amelyben minden állat elpusztult a reperfúzió során, így túlélő nem volt, a PC állatok 40 %, míg a PN kezelt állatok 50 %-a túlélte a kombinált okklúziós/reperfúziós inzultust. Eredményeinket molekulárisan is alátámasztottuk.

Kísérleteinkből arra következtettünk, hogy a peroxinitrit 100 nM-os koncentrációban intracoronáriásan alkalmazva a PC csoporthoz hasonlóan antiarrhythmias hatással rendelkezik.

ÁLLÉL-2

Morfin megvonást kísérő molekuláris változások patkány központi idegrendszerben

Kékesi Orsolya

V. biológus

SZTE TTK Állattani és Sejtbiológiai Tanszék

témavezető: Dr. Szűcs Mária tudományos tanácsadó

konzulens: Dr. Bakota Lília egyetemi tanársegéd

A morfin a klinikumban alkalmazott egyik lepotensebb, bizonyos kórképekben az egyetlen hatásos analgetikum. A morfin illetve származékai (pl. heroin) euforizáló hatásuk miatt kábítószerként is ismertek. Bármely célból is használják, krónikus adagolásakor függőséget (dependencia) okoznak, a szervezet sejtjei normális funkciójukat is csak a drog jelenlétében képesek végezni és a drog megvonásakor elvonási tünetek jelentkeznek. Munkám célja a morfin megvonást kísérő molekuláris jelenségek vizsgálata volt. A megvonás történhet spontán, vagy antagonistával, esetünkben naltrexonnal kiváltott, utóbbi esetben a tünetek rendkívül gyorsan és erősen lezajlanak. A morfin a G-protein kapcsolt receptorok családjába tartozó μ -opioid receptorokon keresztül fejt ki hatását. Csoportunkban korábban beállított protokoll szerint a morfin dependencia kiváltására Wistar nőstény patkányokat hat napig kezeltünk morfin-HCl-val (totál dózis 370 mg/kg, *subcutan*), a kontroll állatok fiziológiás sóoldatot kaptak. Ezután mindkét csoportot naltrexonnal (1 mg/kg *subcutan*) kezeltük, megfigyeltük az elvonási tüneteket és 15 perc elteltével az agyakat és gerincvelőt eltávolítottuk. Differenciál- és sűrűséggradiens centrifugálással korábban kidolgozott módszerrel agyi szubcelluláris frakciókat, a sejtfelszíni receptorokat hordozó szinaptikus plazmamembránt, valamint az intracelluláris membránokat tartalmazó mikroszómát tisztítottunk. Az ismert μ -agonista DAGO-val ([D-Ala², N-Me-Phe⁴, Gly⁵-ol]-enkefalin) homológ leszorítási receptor kötési kísérleteket végeztünk, amelyekből meghatároztuk a kötőhelyek számát ($B_{\max}$) és affinitását (K_d). Kontroll állatokban a szinaptoszomális kötőhelyek száma $416,6 \pm 51,5$ fmol/mg, a K_d értéke $1,8 \pm 0,5$ nM, mikroszómális $B_{\max}$ érték $663,9 \pm 76,9$ fmol/mg, a K_d $4,6 \pm 0,5$ nM, míg a naltrexon kezelt állatok szinaptoszómáiban a $B_{\max}$ $692 \pm 55,1$ fmol/mg, a K_d $3,3 \pm 0,4$ nM, a mikroszómában a $B_{\max}$ $498,9 \pm 43,3$ fmol/mg, a K_d $5,1 \pm 0,6$ nM. Ismeretes, hogy a spinális analgetikus hatásokat közvetítő gerincvelői és az agyi opioid receptorok regulációja eltérő. Ilyen jellegű összehasonlító vizsgálataink jelenleg vannak folyamatban.

ÁLLÉL-3

Hízósejt-neuron interakciók patkány thalamuszban

Kőszegi Zsombor
biológia-tanár (2006)
PTE TTK Kísérletes Állattani és Neurobiológiai Tanszék
témavezető: Dr. Hernádi István egyetemi docens

Hízósejtek nagy számban megtalálhatóak mind a periférián, mind a központi idegrendszerben. Képesek átjutni a vér-agy gáton, így előfordulnak az agyhártyák alatt, illetve, legnagyobb számban, a thalamusz területén. Degranulálódásuk során a szövetek közötti térbe ürítik tartalmukat.

Kísérleteinkben vizsgálni szándékoztuk, hogy: 1.) a hízósejtek által kibocsátott anyagok befolyásolják-e a környező idegsejtek aktivitását a thalamusz területén; 2.) van-e összefüggés a hízósejtek neuronokra kifejtett hatása és a nőstény patkányok ösztroz-ciklusa között.

A hízósejtek aktiválására Compound 48/80-at (C48/80) degranuláló anyagot juttattunk a célterületre *in vivo* mikroiontoforézissel. Megvizsgáltuk az egyes neuronok alapaktivitását, majd a C48/80-kezelés utáni változásokat. A nőstény patkányok ösztroz-ciklusának megállapításához hüvelykenetet vettünk és festés után a kenetet alkotó sejtek különbözősége alapján állapítottuk meg az egyes stádiumokat.

A kísérleteink során 172 idegsejtet vizsgáltunk, és összesen 319 alkalommal végeztünk C48/80 kezelést. Az eredmények azt mutatják, hogy a C48/80 jellemzően megváltoztatja az idegsejtek alapaktivitását a thalamusz területén (81/172, 47%). A megváltozott sejtaktivitás szoros összefüggésben van azzal, hogy a kísérleti nőstény állat éppen milyen ösztroz-stádiumban van. Proösztroz és ösztroz során a neuronok aktivitása nem változott vagy gátlás volt tapasztalható (proösztroz gátlás: 10/23, 43%, ösztroz gátlás: 38/85, 44%). Metösztroz esetén serkentést mutattunk ki (32/45, 71%), míg diösztroz állapotban nem volt elektrofiziológiailag mérhető változás a neuronok működésében a C48/80 közvetett hatására. Kontroll vizsgálatokat az agykéreg és a hippokampusz régiójában végeztünk, mely agyterületeken nem jellemző a hízósejtek előfordulása, így a C48/80 is hatástalan volt. A nőstény patkányok nemi-ciklusának kontrollvizsgálatait petefészek-irtott állatokon végeztük, ahol a thalamikus hízósejtek számának nagymértékű csökkenését figyeltük meg.

További vizsgálatok fényt deríthetnek arra, hogy mik azok a hízósejtek által szecernált vegyületek, melyek, felelősek lehetnek a neuronok működésének megváltoztatásában.

ÁLLÉL-4

Az izomlebomlás mechanizmusának vizsgálata ecetmuslicában domináns hőérzékeny proteaszóma mutánsokon

Papp Zsófia

V. biológus

ELTE TTK Anatómia, Sejt- és Fejlődésbiológiai Tanszék

témavezető: Dr. Lőw Péter egyetemi adjunktus

Az ecetmuslica teljes átalakulással fejlődik. A bábállapot során a lárvális izmai lebomlanak és a meglévő izomprimordiaiból alakulnak ki a végleges izmok. Több irodalmi adat szól amellett, hogy az izompusztulást kísérő fehérje lebontásban fő szerepe az ubiquitin-proteaszóma rendszernek van.

Fény- és elektronmikroszkópos technikákkal a normális izompusztulást menetét vizsgáltuk a vad törzsben a tor területén. Domináns negatív hőmérséklet érzékeny mutánsok segítségével a proteaszómák szerepét vizsgáltuk ebben a folyamatban. Ezeknél a mutánsoknál egy miszenz mutáció az egyik alegység konformációját hőlabilissá teszi. Megfigyeléseink szerint az enzimaktivitások sérülése, zavart okoz ugyan a normális izompusztulásban, de nem gátolja azt teljesen meg. Létezhet tehát valamilyen szabályozó mechanizmus, mely a proteaszómális rendszer sérülésekor másiktól eltereli a lebontás folyamatát, ami részlegesen képes átvenni a proteaszómák szerepét.

A morfológiai megfigyelésekkel párhuzamosan fluorigén szubsztátok segítségével a különböző alegységek enzimaktivitását vizsgáltuk vad és mutáns mintákon is, natív gélelektroforézissel ill. fluoriméter segítségével. Arra voltunk kíváncsiak, hogy az enzimkinetikát, miként befolyásolja, ha a mutáció a katalitikus alegységet, vagy a szubsztátköti zsebként szolgáló alegységet érinti. Megfigyeléseink szerint előbbi esetben csak a $V_{\max}$ érték csökken jelentősen, míg utóbbinál a $V_{\max}$ és a K_M is.

ÁLLÉL-5

**Hem-oxigenáz izoenzim expresszió változások a kardiovaszkuláris rendszerben
különböző ösztrogén telítettségű állapotokban**

Pécsi Ildikó

biológus (2006)

SZTE TTK Összehasonlító Élettani Tanszék

témavezetők: Ifj. dr. László Ferenc egyetemi tanár

Dr. Varga Csaba egyetemi docens

A szív és érrendszeri megbetegedések előfordulási gyakorisága nőkben alacsonyabb, mint férfiakban, viszont a szexuális dimorfizmus a menopauza beállta után kiegyenlítődik. A vérben lévő anyagok, vagy a véráramlással összefüggő nyíró stressz stimuláló hatására az endothel sejtek képesek mind vazokonstriktor, mind vazodilatátor anyagok kibocsátására. A fontosabb endotheliális vazodilatátorok közé tartozó anyagok a nitrogén-monoxid (NO), amelyet a nitrogénmonoxid-szintáz (NOS), és a szénmonoxid (CO), melyet az általunk vizsgált hem-oxigenáz (HO) enzimek termelnek.

Célkitűzés: a HO enzimrendszer expresszió és aktivitás szexuális dimorfizmusának vizsgálata. Módszer: 1./ a hím és ösztroszos nőstény Wistar patkányok aortájában és szívében összehasonlítottuk a HO enzimek aktivitását és expresszióját. 2./ az ösztroszos és diösztruszos nőstény patkányok HO expresszióját a szívben. Eredmények: 1./ kimutattuk, hogy kontroll nőstény ösztroszos patkányok bal szívkamrájában a HO enzim aktivitása magasabb ($2,1 \pm 0,1$ nmol bilirubin/óra/mg protein, $n=8$, $p < 0,05$), mint a hímeké ($0,8 \pm 0,2$ nmol bilirubin/óra/mg protein, $n=4$, $p < 0,05$). Az ösztroszos nőstény csoport aortájában mért HO enzimek aktivitása ($11 \pm 2,0$ nmol bilirubin/óra/mg protein, $n = 8$, $p < 0,05$) szintén magasabb, mint amit a hímeknél tapasztaltunk ($5,0 \pm 0,4$ nmol bilirubin/óra/mg protein, $n=4$, $p < 0,05$). A HO-2 expresszió a bal szívkamrában ($42,6 \pm 34,2$ %-al $n=3$ $p < 0,05$) és az aortában ($37,5 \pm 5$ %-al $n=3$ $p < 0,05$) az ösztroszos nőstényeknél magasabb, mint a hím patkányoknál. A HO-1 izoenzimnél a szívkamrában is ($32 \pm 1,3$ %-al, $n = 5$ $p < 0,05$) magasabb volt az expresszió az ösztroszos nőstényeknél, mint a hímek esetében. 2./ Diösztruszos nőstényekhez képest az ösztroszos patkányokban ($38 \pm 1,6$ %-al, $n=3$ $p < 0,05$) magasabb volt a HO-2 expresszió a bal szívkamrában.

Következtetés: a hímek szívérrendszeri inzultusokkal szembeni csökkent ellenálló képessége összefügg az alacsonyabb HO enzim expresszióval.

ÁLLÉL-6

**A coelomasejtek citológiai és citokémiai jellemzése ép és regenerálódó
Eisenia fetida (Annelida, Oligochaeta) egyedekben**

Somogyi Ildikó

IV. biológia

PTE TTK Általános Állattani Tanszék

témavezető: Dr. Molnár László egyetemi docens

A coelomasejtek citológiai, citokémiai jellegzetességeit tanulmányoztuk ép és regenerálódó *Eisenia fetida* egyedekben konvencionális fény- és elektronmikroszkópos vizsgálatokkal, enzimcitokémiai módszerrel (savanyú foszfátáz reakció) és áramlási citometriával.

Megállapítottuk, hogy a coelomasejtek morfológiai és funkcionális tulajdonságai szövetsérülés hatására megváltoznak. Az ép állatokban az irodalmi adatokból jól ismert három coelomasejt csoport (eleocyta, granulocyta és amoebocyta) volt elkülöníthető, amelyek közül főleg az amoebocytákban találtunk kimutatható savanyú foszfátáz aktivitást. A regenerálódó egyedekben a coelomasejtek négy, jól elkülönülő csoportot alkottak (eleocyta, granulocyta I, granulocyta II, amoebocyta) és ezek közül az amoebocyták és a granulocyták is jelentős savanyú foszfátáz aktivitást mutattak.

Morfológiai vizsgálataink szerint a regenerálódó egyedekben nagy számban fordulnak elő olyan sejtalakok, amelyek az ép állatokban nem találhatók meg: kis méretű basofil agranulocyták, nagy méretű basofil agranulocyták és lobopodiumos basofil sejtek.

A caudalis testszelvények eltávolítása után a vérzéscsillapítást, véralvadást követően a sértett struktúrákban (hasdúc-lánc, bőrizomtömlő) a coelomasejtek invázióját figyeltük meg. A coelomasejtek között tömegesen fordultak elő savanyú foszfátáz termelő és azt részben az extracelluláris térbe ürítő sejtek (eleocyták és granulocyták), valamint fagocitáló aktivitást mutató sejtek. A sértült struktúrákban nagy számban jelentek meg a karakterisztikus morfológiájú neoblastok.

Eredményeink arra utalnak, hogy (i) a coelomasejtek transzformációját a szövetsérülés indukálja és (ii) a coelomasejtek a pusztuló szövetelemek lebontásával teszik lehetővé a sértült struktúrákon a neoblastok megtapadását, amelyek az újraképzett szövetek kialakulását biztosítják.

ÁLLÉL-7

Lúdamyloidosis szcintigráfias vizsgálata

Tarján Anikó

V. állatorvos-doktor

SZIE ÁOTK Élettani és Biokémiai Tanszék

témavezető: Kovács Beáta Marianna PhD hallgató

Munkánk célja a lúdamyloidosis *in vivo* kimutatására szolgáló szcintigráfias eljárás kidolgozása volt.

Pentavalens DMSA-t, valamint lúd serum amyloid A ellen termeltetett specifikus ellenanyagot jeleztünk sikeresen ^{99m}Tc -mal. Egészséges és amyloidosisban szenvedő ludakba is injektáltunk az így előállított radiofarmakonokból. Az injektálást követő 30 percben dinamikus felvételsorozatot, majd a 30. percben, illetve 1, 2, 4, 6 és 24 órával az injektálás után statikus felvételeket készítettünk a ludakról. A 24 órás felvételt követően az állatokat extermináltuk, majd felboncoltuk és szerveikről *ex vivo* felvételt készítettünk. Végül a szervekből mintát vettünk immunhisztokémiai kontrollvizsgálat céljára.

A szcintigramok vizuális értékelése alapján nem tudtunk különbséget tenni az amyloidosisban szenvedő és az egészséges ludak között. Ehhez a felvételek kiemelt területein (ROI) mért átlagos tartózkodási idők (MRT) kiszámítására és összehasonlító elemzésére volt szükség.

A nyomokban előforduló amyloidot egyik radiofarmakon sem mutatta ki. A jelentősebb amyloid lerakódások vizsgálatára azonban a ^{99m}Tc -DMSA(V) és a ^{99m}Tc -anti-SAA IgG is alkalmasnak bizonyult. A ^{99m}Tc -DMSA(V) esetében nem találtunk szignifikáns eltérést az egészséges és az amyloidos szervek MRT-jei között, habár az érintett szerveké mindig magasabb értéket ért el. Véleményünk szerint további vizsgálatokkal statisztikailag is alá lehetne támasztani a különbséget. A lúdspecifikus ^{99m}Tc -anti-SAA IgG esetében szignifikáns eltérést találtunk a máj és a gastrointestinalis traktus MRT-jei között az egészséges és az amyloidos szervek összehasonlításakor. Így ez megfelelőbb alternatívának bizonyult a ^{99m}Tc -DMSA(V)-val szemben.

A jelzett lúdspecifikus anti-SAA ellenanyaggal bizonyult statisztikailag is sikeresnek az amyloidosis szcintigráfias vizsgálata. Mivel a ludakban a betegség spontán is előfordul, valamint gyakran kialakul posztvakcinációs formája, így viszonylag olcsó és megfelelő állati modell lehet a humán szisztémás amyloidosis vizsgálatára.

**Prefrontális kérgi alfa-2A noradrenerg receptorok szerepének vizsgálata idegen
környezetre eltérően reagáló patkányok szorongására**

Tóth Mónika Ágnes

IV. biológus

PTE TTK Kísérletes Állattani és Neurobiológiai Tanszék

témavezetők: Uzsoki Boglárka tudományos segédmunkatárs

Dr. Hernádi István egyetemi docens

Wistar patkány törzsön belül stresszhelyzetekre eltérően reagáló egyedek figyelhetők meg. Idegen környezetbe helyezve lokomotoros aktivitásuk alapján nagy (high responder, HR) illetve kis aktivitású (low responder, LR) csoportokat lehet elkülöníteni. Az egyedek nem csak viselkedésükben, hanem neurokémiai tulajdonságaikban is különböznek egymástól, például a prefrontális kéreg (PFC) területén eltérő noradrenerg (NA) tónus és receptor-eloszlás feltételezhető.

Kísérleteinkben emelt kereszt-palló szorongási teszt segítségével értékeltük HR és LR patkányok viselkedési különbségeit. Elemeztük, hogy módosul HR és LR állatok szorongása a PFC-be juttatott alfa-2A receptor specifikus agonista guanfacine (GUA), és antagonistá BRL44408 (BRL) eltérő dózisainak hatására. Hipotézisünk szerint a GUA preszinaptikus alfa-2A autoreceptorokhoz kötődve csökkenti a NA felszabadulást és a szorongást, míg a BRL növeli a NA mennyiségét, mely posztoszínaptikusan szorongásfokozóként hat.

Eredményeink alapján HR állatok alapvetően kevésbé szorongtak: ágaskodásaik, nyitott karokba történő belépéseik száma és az ott tartózkodásuk ideje magasabb volt, mint LR állatoké. GUA kis dózisa HR-ekben csökkentette a szorongást, növelve a nyitott karokban töltött időt. Nagyobb dózisa ezzel ellentétesen hatott LR patkányokban. A BRL szorongás-fokozóként hatott mindkét állatcsoportban, de LR patkányokban a kis, HR állatokban nagyobb dózis volt hatásos.

A HR-ekben alacsonyabb nyugalmi NA-szint feltételezhető. Eredményeinket magyarázza, hogy csökkent NA-kiürülés esetén az alfa adrenoceptorok érzékenyebbé válnak az agonistákra, míg érzékenységük csökken az antagonistákra (Greenberg et al, 1997). Ezzel ellentétben LR állatokban, autoreceptorok csökkent érzékenysége miatt, a GUA csak nagy dózisban és feltételezhetően posztoszínaptikusan fejti ki hatását, ugyanakkor BRL kisebb dózisa is elegendő a szorongás kiváltásáért.

Kísérleteinkkel jelentős különbséget mutattunk ki HR és LR patkányok PFC működésének alfa-2A receptorhoz köthető modulációjában, mely előrevetíti egyes terápiás szerek állatkísérletes tesztelése ill. alkalmazás során a lehetséges egyéni különbségek fokozott figyelembe vételét.

ÁLLÉL-9

Nőstény patkányok hízósejtjeinek vizsgálata thalamusban

Vecsei Zsuzsanna

V. biológus

PTE TTK Kísérletes Állattani és Neurobiológiai Tanszék

témavezető: Dr. Wilhelm Márta egyetemi docens

Az immunrendszer részeként ismert kötőszöveti hízósejtek (MC=mast cell) az allergiás reakciókért (asztna, ekcéma, anafilaxis), multiplex sclerosis, mastocitózis, rheumatoid arthritis kialakulásáért felelősek. Számos fajban azonban normál fiziológiás körülmények között is fellelhetők az agyban, főként a thalamus területén. Közepes méretű ereken jutnak be az agyba, áthatolva a vér-agy gáton. Funkciójuk itt csak részben ismert, morfológiailag és fiziológiailag megkülönböztethetők a többi MC-től.

Vizsgálataink szerint a hízósejtek száma nemtől és kortól függően fiziológiás körülmények között is változik. Nőstényekben MC-többség figyelhető meg a hímekhez képest. Ez alapján esetlegesen összefüggésbe hozható a MC-ek száma a nemi működéssel. Számolásainkat savas toluidin kézzel festett metszeteken végeztük. Megfigyeltük, hogy nőstény patkányok thalamikus hízósejtszáma függ a reprodukciós ciklustól. Ovariectomizált patkányok esetében a MC-ek száma elenyészőnek mutatkozott a normál oestrusszal rendelkezőkkel szemben. (Normál nőstényekben 1874-6900 db között változott, sejtméret: $13,265 \pm 2,86 \mu\text{m}$, ovariectomizált nőstényekben 14-28 db, sejtméret: $14,286 \pm 4,36 \mu\text{m}$.) A sejtszámolásnál Abercrombie korrekciót alkalmaztunk.

Sejtméretbeli vagy a thalamikus magcsoportonkénti eloszlási különbség nem volt észlelhető. A hízósejtek elhelyezkedését a thalamus magvakban neurolucida segítségével térképeztük fel.

A hízósejtek granulumai számos biológiai aktív molekulát tartalmaznak, melyeknek egy része előre elkészített, más részük pedig újonnan szintetizálódik. Aktivációjukkor az ezekből felszabadult anyagok hatnak a vaszkuláris permeabilitásra és a neuronális excitabilitásra. Elektrofiziológiai kísérletek során a C48/80-nal aktivált MC-ek bizonyítottan excitatorikus ill. inhibitorikus hatással bírnak a neuronokra. Célunk a MC-neuron kapcsolatok morfológiai ill. fiziológiai megismerése. Az aktivált hízósejteket neurobiotinnal jelöltük meg, amit a granulumok proteoglikán tartalmuk gyors internalizációja következtében felvettek. Így a neurobiotin bekerült a MC-ekbe. A gátló és serkentő hatás nemfüggő, nem bizonyított azonban, hogy pontosan mely anyagok felelősek ezért a hatásért. Ezért vizsgáljuk a granulumok tartalmát (hisztamin, 5-HT, SP) és különböző receptorok (RyR, 5-HTR) jelenlétét. Mindezt fénymikroszkópos immunhisztokémiai és fluoreszcens jelölés segítségével tesszük.

BIOINFORMATIKA TAGOZAT

BIOINF-I

A Hepatitis C vírussal fertőzött betegek véranalízisének kinetikai nyomonkövetése

Fráter Edit

V. biológia-fizika

DE TTK Fizikai Kémiai Tanszék

témavezető: Dr. Gáspár Vilmos tudományos tanácsadó, egyetemi magántanár

konzulens: Dr. Tornai István egyetemi docens

A hepatitis C kórokozója (HCV) vérrel terjedő RNS vírus. A fertőzöttek 25%-a 3-4 hónapon belül magától meggyógyul. A maradék 75% viszont fertőzött marad és alattomos, krónikus májbetegség alakul ki náluk. A krónikus HCV-os betegek hatékony gyógyítására kombinált kezelések nyújtanak lehetőséget. Gyógyszerhatástani vizsgálatok alapján tovább pontosítható a terápia ideje, hatékonysága. A terápia javítható, de ehhez nagyobb számú beteganyagon szerzett eredmények szükségesek. Jelenleg 347 HCV-vel fertőzött beteg adatai állnak rendelkezésemre. A fertőzöttek bilirubin, GOT = asparat transzamináz, GPT = alanin-aminotranszferáz, GGT = gamma- glutamil transzferáz, ALP = alkalikus foszfatáz, glükóz, fehérvérsejt, vörösvértest, hematokrit, hemoglobin, trombocita, retikulocita, TSH, kreatinin, PCR kvantitativ V/ml eredményeit egy Microsoft Excel formátumú adatbázisba rendeztem. A figyelmet főleg a 3 májenzim értékre fordítottam. A GPT, GOT és GGT enzimek normális értékei 40 U/L körül mozognak. Vizsgálataim alatt a Pegasys-Copegus és Pegintron-Rebetol gyógyszeres kezelésben résztvevő betegek GPT eredményeit az idő függvényében ábrázolva karakterisztikus tendenciákat fedeztem fel. A kezelések alatti pontos bejegyzések és eredmények ismeretében módszerünkkel meg tudtam különböztetni a gyógyult és a fertőzötten maradt betegeket. A kezelés elkezdése után már 200 nappal megjósolható a kezelés hatékonysága. Ha az alanin-aminotranszferáz eredmények leszálló tendenciát mutatnak egy exponenciális görbéhez hasonlóan, akkor a kezelés eredménye a gyógyulás lesz. Míg azoknál a HCV-al fertőzötteknél, akiknél nem használt a kezelés, meg lehet állapítani a kezelés hiábavalóságát és nem kell egy évig folytatni azt. Továbbá, figyelmünkbe került egy Virtuall Cell nevezetű szoftver. Használatának megismerése a következő lépés. A szoftver segítségével biológiai modellből matematikai modellt lehet készíteni, ezáltal kinetikus görbék felismerése, gyorsabb és pontosabb leolvasása lehetséges. A várható eredmény: a HCV terápia hatékonyságának megállapítása, esetleges gyógyszerelváltás, mindez jelentős anyagi megtakarítást jelent az országnak. Távoli céljaim között szerepel egy kinetikai modell felírása ezen eredmények felhasználásával.

A conopresszinek szerkezetvizsgálata elméleti módszerekkel

Janzsó Gábor

V. biológus

SZTE TTK Biotechnológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Leitgeb Balázs tudományos munkatárs

Dr. Rákhely Gábor egyetemi docens

A conopresszinek egy nagyon ősi és konzervált peptidcsalád, a vazopresszin-oxitocin szupercsalád tagjai közé tartoznak. Ugyanakkor, mivel ezeket a peptideket elsőként a *Conus* nemzetségbe tartozó tengeri ragadozó csigák mérgeiből izolálták, így a conopresszinek a conopeptidek népes családjának is tagjai. A Lys-conopresszin-G (Cys-Phe-Ile-Arg-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly-NH₂) és az Arg-conopresszin-S (Cys-Ile-Ile-Arg-Asn-Cys-Pro-Arg-Gly-NH₂) egyaránt gyűrűs szerkezetű, amelyet az egyes és a hatos pozíciókban lévő ciszteinek között létrejövő diszulfid-híd alakít ki. A peptidek C-terminálisa amidált, továbbá két bázikus aminosavat (Arg és Lys) tartalmaznak. Amíg a conopresszinek biológiai hatásait részletesen tanulmányozták, addig ezen molekulák háromdimenziós térszerkezetére vonatkozóan semmiféle kísérleti mérésből vagy elméleti munkából származó adat nem áll rendelkezésre az irodalomban.

A Lys-conopresszin-G és az Arg-conopresszin-S peptidek részletes szerkezetvizsgálatát, konformáció-analízisét végeztük el molekulamodellelési módszerek alkalmazásával. Mivel a molekulák Cys⁶-Pro⁷ peptidkötése esetén felléphet a *cisz-transz* izoméria, így a két izomert külön-külön modelleztük. A különböző szerkezeti tulajdonságok azonosításához az alábbi vizsgálatokat végeztük el a szimulált anellációból kapott konformerek esetén. A konformációs terek jellemzésére a Phe²/Ile², Ile³, Arg⁴, Asn⁵, Cys⁶, Pro⁷, Lys⁸/Arg⁸ és Gly⁹ aminosavak Φ és Ψ molekulagerinc torziós szögeinek felhasználásával különböző Ramachandran ábrákat készítettünk, és meghatároztuk a preferált tartományokat. Ugyanakkor ezen ábrák alapján a konformerek eloszlásait konformációs hasonlósági indexek kiszámításával hasonlítottuk össze. Emellett meghatároztuk a *g*(+), *g*(-) és *transz* rotamer populációk arányait a Cys¹, Phe²/Ile², Ile³, Arg⁴, Asn⁵, Cys⁶ és Lys⁸/Arg⁸ aminosavak oldalláncai esetén. Végül megvizsgáltuk a conopresszinekben előforduló karakterisztikus másodlagos szerkezeti elemeket, valamint a konformerek stabilizálásában és a másodlagos szerkezetek kialakításában fontos szerepet játszó intramolekuláris H-kötéseket.

BIOINF-3

Az ubiquitin-konjugáló enzimek bioinformatikai elemzése

Kalapos Balázs

IV. biológia-számítástechnika

NYF TTFK Agrár és Molekuláris Kutató Intézet

témavezető: Dr. Máthé Endre főiskolai tanár

Az ubiquitin-proteasóma rendszer az eukarióta sejtben történő gyors fehérje degradációért felelős komplex, ennek működése fontos a sejtciklus alatt, különösen a mitózisban. Ebben a rendszerben 3 fontos enzimes család működik, az E1, E2, E3 mely megjelöli egy polyubiquitin-farokkal a sejt által lebontásra ítélt fehérjét, mely a proteasóma 26S alegységében bomlik le. Úgy tudjuk, a rendszer működéséhez szükségesek különböző degradációs motívumok, az úgynevezett degronok, melyek magukban a célfehérjék szekvenciájában találhatóak meg. Több ilyen degron is ismert, mint például a Destruktív (D) -box, a KEN – box vagy a legújában felfedezett CRY – box. A degronok jól konzerválódott szakaszok a legtöbb eukarióta organizmus genomjában.

A célom az, hogy minél többet megtudjunk a poliubiquitinációs rendszerben működő enzimekről bioinformatikai módszerekkel, és mindezzel segítsen a kísérleti munkát is. A genetikai kísérletek *Drosophila melanogaster* mutáns törzsekkel folynak, melyek egy részének alapjául az általam készített bioinformatikai adatbázis szolgál, mely azért készült el, hogy segítségével új, ismeretlen mitotikus géneket fedezhessünk fel. Az adatokat a SwissProt és a TrEMBL valamint más szerkezeti modellekt tartalmazó adatbázisokból gyűjtöttem, feldolgozásukhoz pedig helyben és webes felületen elérhető szoftvereket használtam. Az adatbázis tartalmazza a *Drosophila* azon fehérje szekvenciáit, melyekben előfordul valamilyen ismert degron, világosan látszik ezek hol helyezkednek el benne, mi az adott szekvencia jelenleg ismert funkciója és azonosítója. Ennek alapján ki tudjuk választani azokat a mutáns muslica törzseket, melyek vizsgálatával többet megtudhatunk a mitotikus sejtosztódás természetéről. Rendszer-biológiai elemzéseket végeztem a genetikai tesztelés alatt álló mutánsokon, az elkészített hálózatok elemzésével számos ismeretlen gén funkciójára lehet következtetni annak alapján, milyen más génekkel áll interakciós kapcsolatban.

Jelenleg fehérje funkció -és szerkezeti, valamint filogenetikai elemzéseket végzek bioinformatikai módszerekkel a vizsgált *Drosophila*, valamint más modell élőlények és humán homológ szekvenciákon.

StructureProjector: egy új *in silico* módszer fehérjék térszerkezetpredikciójára

Novák Ádám

IV. biológus

ELTE TTK

témavezető: Dr. Miklós István

Az ismert biológiai szekvenciák (DNS, RNS és fehérjeszekvenciák) száma a modern biokémiai technikáknak köszönhetően robbanásszerűen növekszik. A laboratóriumi ellenőrzött, ismert térszerkezetű fehérjék száma ennél lényegesen lassabban nő, mivel a szekvenálás lényegesen olcsóbb és gyorsabb, mint a három dimenziós térszerkezet meghatározása. Ezért az ismert biológiai szekvenciák és az ismert fehérjeszerkezetek közötti különbség folyamatosan növekszik. A költséges laboratóriumi térszerkezet-meghatározás egy lehetséges alternatívája az *in silico* szerkezetpredikció, melynek költsége és időigénye nagyságrendekkel kisebb, viszont a megbízhatósága jelenleg rosszabb az *in vitro* módszerekénél. A bioinformatika egyik központi feladata az *in silico* módszerek javítása. Az egyik leggyakoribb és legnépszerűbb számítógépes módszer az ún. homológiamodellezés, amely során egy ismert szerkezetű fehérje alapján próbálunk vele homológ fehérjék szerkezetére következtetni. A központi probléma az egymással homológ pozíciók megtalálása, azaz egy optimális szekvenciaillesztés megadása. Az *in silico* módszerek gyenge predikciós képessége a szekvenciaillesztés pontatlanságán alapul.

A bemutatásra kerülő munkánkban egy új, evolúciós modellen alapuló Bayes statisztikai eljárást dolgoztunk ki homológiamodellezésre. A módszerünk egy ismert térszerkezetű fehérje másodlagos térszerkezeti elemeit vetíti rá a többi szekvenciára filogenetikus fákön keresztüli többszörös szekvenciaillesztés segítségével. Az eljárásunknak az eddigiekkel szemben a következő előnyei vannak:

- Figyelembe veszi az evolúciós információkat: egy adott pozícióban levő eltérés evolúciósan távoli szekvenciák esetében inkább megengedett, mint közeli homológ szekvenciák esetében.

- Megbízhatósági mérőszámokat ad meg a prediktált térszerkezeti elem jóságára. A mérőszámok vizualizációjával a felhasználók világos képet kapnak arról, hogy a prediktált térszerkezet egyes részeiben mennyi a bizonytalanság.

- A térszerkezetpredikció mellett filogenetikai elemzést is ad.

A módszert C és Java programozási nyelven implementáltuk, és a HOMSTRAD strukturális adatbázison teszteltük. Eredményeink azt mutatják, hogy a módszer konzervatív fehérjék térszerkezetét igen pontosan jósolja.

BIOINF-5

Sejtciklus-modellek vizsgálata

Pál Ildikó

II. biológus

ELTE TTK Kémiai Intézet

témavezetők: Dr. Zsély István Gyula tudományos segédmunkatárs

Dr. Turányi Tamás egyetemi docens

A sejtek osztódási ciklusát bizonyos enzimek koncentrációjának időbeli változásai okozzák, ezért a folyamatot enzimkinetikai modellel lehet leírni. Csikász-Nagy Attila és mtsai (2006, *Biophysical Journal* **90**: 4361-4379.) létrehozta egy általános sejtciklus modellt, amely egyszerre több élőlény sejtciklusának viselkedését képes szimulálni úgy, hogy az egyes élőlények esetén a modell differenciál-algebrai egyenletrendszere azonos, csak a paraméterek értékei térnek el.

Az általános sejtciklus modellt beépítettük abba a programcsomagba, amelyet a sarjadzó élesztő sejtciklusa egy korábbi modelljének vizsgálatára fejlesztettek ki a tanszéken (Lovrics 2006, A sarjadzó élesztő sejtciklusa egy modelljének időskála- és érzékenységtérképének vizsgálata. *mscr.* ELTE Kémiai Intézet). A beépített modell jelenlegi formájában a sarjadzó élesztő, a hasadó élesztő, és az emlőssejtek sejtosztódásának dinamikus leírására alkalmas. Munkánk során vizsgáltuk a paraméterek egyenkénti változtatásának hatását. Egy-egy paraméter értékét addig csökkentettük illetve növeltük, amíg megkaptuk azokat a határokat, amelyekben belül a sejt még életben marad; a számítások során a többi paraméter értékét az eredeti értéken rögzítettük. Ezzel az eljárással képet kaptunk a modell robusztusságáról is: a paraméterek csaknem felét lehetett több nagyságrenddel növelni vagy csökkenteni úgy, hogy a modell továbbra is élő sejtet szimulált. 13 paraméter esetében volt jellegében eltérő a változtathatóság határa az egyes élőlényeknél; 5 esetben az emlős sejtek viselkedése tért el, míg a két élesztő azonos csoportba tartozott, de 6 esetben az emlős és valamelyik élesztő került azonos csoportba. Két paraméter változtathatósága mindhárom élőlény esetében más jellegű volt.

Ezt követően elvégeztük a modell Monte Carlo analízisét. Minden egyes élőlény esetén tízezer paraméterkészletet állítottunk elő latinhiperkocka-mintavétellel és megvizsgáltuk a kapott sejtmodelleket. Az élő sejtekhez tartozó paraméterkészletek korrelációanalízise megmutatta, hogy egyes paramétereknek csak bizonyos kombinációi adnak élő sejtet. A talált összefüggéseket értelmeztük a sejtciklus biológiai folyamatai alapján. A paraméterek kapcsolataiból kiderült, hogy melyek azok az anyagfajták, amelyek központi szerepet játszanak a sejtek életciklusában. Az emlős sejteknél ez a *cycA* és a *cycE*, míg a hasadó élesztőnél ez a *cycB* és a *Cdc25*. A sarjadzó élesztő esetében nem találtunk erősen korrelált paramétereket.

A sejtciklus és a cirkadián óra kapcsolata emlős sejtekben

Zámborszky Judit

V. biomérnök

BME VBK Alkalmazott biotechnológia és Élelmiszer tudományi Tanszék

témavezető: Dr. Csikász-Nagy Attila egyetemi adjunktus

A cianobaktériumoktól az emberig minden élőlényre hatással van a nappalok és éjjelek váltakozása. Számos molekula aktivitása változik e 24 órás ritmus szerint. A legújabb kutatások során bizonyították, hogy a napi ciklusokat reguláló cirkadián óra transzkripciós szabályzással befolyásolja a sejtciklust irányító hálózat egyik kulcsfontosságú enzimének, a Wee1-nek a szintézisét is. A két oszcillátor kapcsolatát már a 70-es évek óta próbálják felderíteni, azonban annak molekuláris részleteit emlős sejtekben csak az elmúlt években fedezték fel (Matsuo és mtsai, 2003, *Science* **302**: 255-259).

Eredményeikre támaszkodva a két rendszert tartalmazó bonyolult molekuláris hálózat vizsgálatához matematikai modellt készítettem, melyet a biokémiai reakciókinetika módszereinek segítségével analizáltam. A rendszer tartalmazza az emlős sejtciklus szabályozó hálózat Novák és Tyson (2004, *J. Theor. Biol.* **230**: 563-579.) modelljének továbbfejlesztésével készült részletes modult és egy egyszerűsített cirkadián óra szabályzó hálózatot. Az így kapott nemlineáris differenciálegyenlet rendszer új paramétereit optimalizáltam, és a modellt számítógépes szimulációkkal vizsgáltam.

Különböző erősségű kapcsoltság a két oszcillátor között más eredményeket adott. Erős kapcsoltságnál ún. módusszinkronizációt és kvantált sejtciklus hossz eloszlást tapasztaltam. Ilyen kvantált sejtciklus időket megfigyeltek már emlős sejtekben is (Klevecz 1976, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **73**: 4012-4016.), de ezidáig nem tudták azonosítani molekuláris hátterüket. Matematikai analízisem alapján feltételezhető, hogy a cirkadián óra sejtciklusra gyakorolt hatása okozza ezt a viselkedést.

Régóta vitatott, hogy emlős sejteknél megfigyelhető-e az élesztőknél tapasztalt méretkontroll-függő sejtciklus szabályzás. A modell részletes vizsgálata arra az eredményre vezetett, hogy a napi ritmus hosszához közeli tömegduplázódási időknél nem szükséges a méretkontroll, míg ettől eltérő növekedési sebességeknél a méretkontroll szerepe fontos lehet. A megfigyelt, cirkadián óra hatásától függő méretkontroll jelenléte magyarázatot adhat az irodalomban található ellentmondó eredményekre.

A modell alkalmas a napi ritmus és a rákbetegség kapcsolatának számítógépes vizsgálatához, és segítséget nyújthat a kronoterápiás kezelések beállításához.

BIOKÉMIA 1. TAGOZAT

BIOKÉM1-1

**A multidrog rezisztencia kialakulásáért felelős ABC transzporterek kölcsönhatása
szulfátszármazékokkal**

Bánsághi Száva

V. biológus

SZTE TTK Biokémiai Tanszék

témavezető: Dr. Krajcsi Péter kutatási igazgató

konzulens: Dr. Lehoczkine dr. Simon Mária egyetemi docens

Az ABC transzporterek alkotják az egyik legnagyobb ismert fehérjecsaládot. Tagjai számtalan anyag membránon keresztül történő transzportjáért felelősek. A család széles szubsztrátspecifitású tagjai gyógyszermolekulákat juttathatnak ki a sejtből, ami multidrog rezisztenciát okozhat. A jelenség farmakológiai jelentősége miatt rendkívül jól tanulmányozott.

Az ABC transzporterek felelősek ezen kívül a gyógyszerek és egyéb molekulák ADME tulajdonságai közül a felszívódásért, szövetek közti eloszlásáért, és kiválasztásért is. A molekula-transzporter kölcsönhatás megismerése révén előrejelezhetők a gyógyszerek ADME tulajdonságai. Ezen vizsgálatok a transzporterfehérjét tartalmazó membránpreparátumok segítségével *in vitro* is elvégezhetőek.

Jelen munkánkban ismert és feltételezett szubsztrát molekulák kölcsönhatását vizsgáltuk multidrog transzporterekkel a Solvo Biotechnológiai ZRt. által fejlesztett *in vitro* esszék segítségével. Célunk az volt, hogy a szulfát, szulfonsav, vagy szulfonamid származékok között a transzportereket az ATPáz esszében hatékonyan stimuláló anyagokat találjunk.

Három transzporter, az MXR (ABCG2), az MRP1 (ABCC1) és az MRP2 (ABCC2) kölcsönhatását vizsgáltuk 16 anyaggal. Ezek gyógyszermolekulák és táplálékkiegészítők, melyek közt megtalálhatóak a transzporterek ismert aktiválószerai is. Az alkalmazott *in vitro* ATPáz esszében sikerült a stimuláló hatást jelző kölcsönhatást kimutatni a már ismert szubsztrátokon. Esszé rendszerünk tehát alkalmasnak bizonyult a tanulmányozni kívánt kölcsönhatások jellemzésére.

Vizsgált anyagaink között módszerünkkel azonosítottunk az ATPáz stimuláló szereket, amelyekről eredményeink alapján feltételezhetjük, hogy az egyes transzporterek szubsztrátjai. Ugyanakkor a tesztelt molekulák között az ATPáz esszéinkben referencia szubsztrátként alkalmazható, az eddig ismerteknél hatékonyabb aktiválószeret nem találtunk. A munka folytatásaként a molekulakészlet bővítését, az anyagok glutation jelenlétében mutatott kölcsönhatásának elemzését, és az MRP3 (ABCC3) transzporter vizsgálatokba történő bevonását tervezzük.

BIOKÉM1-2

KNOCK OUT és szövetspecifikus KNOCK OUT egerek előállítása és genotipizálása

Farkas Anita

IV. molekuláris biológus

DE OEC Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet

témavezetők: Dr. Nagy László, egyetemi tanár

Dr. Szántó Attila egyetemi tanársegéd

A laboratóriumi egér az orvosi kutatás egyik legelterjedtebb modell állata, amely a génfunktó- és szabályozás megértésében elsődleges szerepet játszik. Előállításukra számtalan módszert dolgoztak ki.

Munkacsoportunk magreceptorok élettani hatásmechanizmusának kutatásával foglalkozik. A magreceptorok működésének pontos megismeréséhez, használunk knock out és transzgenikus állatokat. Ezeknek az állatoknak a segítségével tanulmányozható, hogy adott magreceptor hiánya hogyan egyeztethető össze az étellel ill. milyen fenotípusos elváltozásokat idéz elő.

Az általunk vizsgált magreceptorok heterodimer formában aktívak ezért vált célszerűvé a heterodimer mind a két tagjának kiütése.

Vannak olyan magreceptorok, amelyeknek teljes hiánya már embrionális korban letális (pl.: PPARgamma). Az ilyen magreceptorok esetében a gén kiütés csak korlátozottan használható. Az ilyen receptorok vizsgálatára dolgozták ki a szövet-specifikus rekombinációt előidéző rendszereket. Ezek közül a legjelentősebb és általunk is használt a Cre/loxP rendszer, melynek lényege, hogy a kiütésre szánt gén bizonyos darabját két loxP (a P1 X-over locusa) szekvenciával jelöljük, mely az állatban nem okoz elváltozást (floxolás). Ha ezt az egeret keresztezzük egy Cre rekombinázt kifejező transzgén állattal, a rekombináz felismerve a loxP szekvenciákat a köztes DNS darabot kivágja, és létrejön a knock out állat.

A munkacsoport tagjai a magreceptorok működését makrofágokban is vizsgálják ezért a cél olyan transzgén egér előállítása, hol a kívánt gén csak a makrofágokban hiányzik. Ezt lehet elérni LysCre genotípusú állatok PPARg fl/- vagy RXRa fl/fl állatok keresztezésével, mivel a Cre rekombináz csak a makrofágokban fog kifejeződni, ugyanis az enzim expressziója egy makrofág specifikus enzim (lysosim) promotere által szabályozódik.

MxCre genotípusú keresztezéssel, nem csak a makrofágokban tudjuk elérni a génkiütést.

A végcél PPARg fl/- MxCre ill. PPARg fl/- LysCre genotípusú és RXRafl/flRxRb-/- MxCre ill. RXRafl/flRxRb-/-LysCre modell állatok előállítása.

A különböző genotípusok azonosítása 4 hetes egér farokvágása után történő DNS izolálás, PCR technika és DNS- elektroforézis segítségével történik.

BIOKÉM1-3

**A cGMP-függő protein-kináz G szerepet játszik a BNP kardioprotektív hatásában
izolált patkányszívben**

Huliák Ildikó

V. biológus

SZTE TTK Biokémiai Tanszék

témavezetők: Giricz Zoltán gyógyszerész

Dr. Ferdinandy Péter egyetemi tanár

konzulens: Kissné dr. Deér Aranka egyetemi docens

A B-típusú nátriuretikus peptid (BNP) fontos szerepet játszik a szív iszkémiás károsodásának csökkentésében. Ezt a protektív hatást a BNP az intracelluláris cGMP koncentráció emelésén keresztül fejti ki, azonban a szignálút további része nem teljesen tisztázott. Jelen kísérletünkben azt vizsgáltuk, hogy a cGMP-dependens protein-kináz G (PKG) szerepet játszik-e a BNP-mediálta kardioprotekció kialakításában.

Kísérleteinkben hím Wistar patkányok szívét izoláltuk, majd 15 percig Langendorff szerint perfundáltuk. Ezt követően a bal leszálló koronária lekötésével 30 perc regionális iszkeániát idéztünk elő, majd 120 perc reperfúziót alkalmaztunk. A szíveket BNP-vel (10 nM), vagy 8-Br-cGMP-vel (membrán permeábilis cGMP analóg, 10 nM), vagy pedig BNP-vel (10 nM) és valamelyik PKG inhibitorral (KT5823- 600 nM, PET- 1 μ M) kezeltük. Az iszkeániát követően laktát-dehidrogenáz (LDH) kiszabadulást, a reperfúzió végén pedig trifenil-tetrazólium-kloridos festéssel infarktus méretet határoztunk meg. A PKG aktivitásának vizsgálatához az enzim egyik szubsztrát fehérjéjének foszforilált alakját detektáltuk western blot segítségével.

A BNP és a 8-Br-cGMP szignifikánsan csökkentette az infarktus méretet ($41,6 \pm 2,9\%$ -ról $25,3 \pm 4,6\%$ -ra, és $15,6 \pm 2,4\%$ -ra), és az LDH kiszabadulást a szívizomból ($0,98 \pm 0,27$ U/min/g-ról $0,76 \pm 0,12$, illetve $0,34 \pm 0,04$ U/min/g-ra) a kezeletlen kontrollhoz viszonyítva. A PKG inhibitorok esetében elmondható, hogy mindkét inhibitor felfüggesztette a BNP védő hatását az infarktusméret ($40,8 \pm 3\%$, $47 \pm 3,5\%$) tekintetében, azonban az LDH kiszabadulást vizsgálva csak a KT5823 kezelésnél kaptunk szignifikáns változást ($1,2 \pm 0,1$ U/min/g, $0,8 \pm 0,07$). Az immunoblot eredménye összecseng az infarktusméret és a LDH kiszabadulás változásaival: a BNP és a 8-Br-cGMP kezelés hatására emelkedő tendenciát mutat a PKG aktivitása, míg az inhibitorok esetén csökkent enzimaktivitást detektáltunk. Így megállapíthatjuk, hogy a BNP által kiváltott kardioprotekciót a cGMP-PKG útvonal közvetíti.

BIOKÉM1-4

A glikoziláció MXR/BCRP transzporter működésére gyakorolt hatásának vizsgálata

Mészáros Péter

V. biofizikus

SZTE TTK Orvosi Fizikai és Biofizikai Intézet

témavezető: Dr. Nagy Tünde, senior kutató

konzulens: Dr. Nagy László, egyetemi docens

Számos, az ABC transzporterek hiánya miatt kialakuló betegség megértése vezetett el bennünket annak felismeréséig, mennyire fontosak ezek a fehérjék. Ennek köszönhetően a mai gyógyszer hatóanyag fejlesztések elengedhetetlen részét teszik ki a drog-transzporter kölcsönhatások vizsgálata *in vitro* és *in vivo* módszerekkel.

Az MXR/BCRP (ABCG2) fehérje egyike a legfontosabb transzportereknek az MDR1 és MRP1 mellett a tumor terápia során fellépő drogrezisztencia kialakulásában. Felfedezése is a citotoxicitásban mutatott igen fontos szerepének köszönhető. Kifejeződik olyan élettanilag kulcsfontosságú szervekben, mint az epecsatornák, a vér-agy gát endotél sejtei, a bélbolyhok és a vese proximális tubulusok hámsejtjei.

Az általunk vizsgált MXR/BCRP transzporter glikozilált fehérje. A glikoziláció bizonyítottan hatással van a különböző fehérjék tulajdonságaira. Befolyásolja többek között a fehérje működését, fizikokémiai tulajdonságait, a felismerést, az antigenitást és akár a proteolízis ellen is védelmet nyújthat.

Célunk annak kiderítése, hogy a glikoziláció hatással van-e az MXR/BCRP transzporter működésére. Laborunkban különböző membránpreparátumokat állítottunk elő, emlős és rovar sejtvonalakból. Az emlős sejtvonalból drog szelekciót követően kaptunk MXR/BCRP termelő sejtvonalat, míg a rovarsejtekből rekombináns bakulovírus fertőzéssel. Míg az Sf9 rovar sejtvonala csak minimális mértékű, addig az emlős sejtvonala teljes glikozilációra képes.

Két módszerrel deglikoziláltuk a fehérjéket az emlős membránokból – tunicamycinnel, illetve PNGase enzimmel. A teljes deglikoziláció elérésére az utólagos PNGase enzimes kezelés bizonyult alkalmasnak. A különböző mértékben glikozilált/deglikozilált transzportert tartalmazó preparátumokon vezikuláris transzport assay és ATPase assay méréseket végeztünk. Összehasonlítottuk a glikozilálatlan Sf9 preparátumot a deglikozilált és kontroll emlős preparátumokkal. Ezzel az assay-vel megmutatható a fehérje működése, kinetikája is. Munkánk során jelentős különbséget nem tapasztaltunk. A vezikuláris transzport méréseink alátámasztják korábbi eredményeinket.

BIOKÉM1-5

Az amiloid szálak törésének szerepe a β_2 -mikroglobulin polimerizációjában

Micsónai András

V. biológus

ELTE TTK Biokémia Tanszék

témavezető: Dr. Kardos József egyetemi adjunktus

Napjainkban egyre súlyosabb problémát okoznak a fehérjék kóros aggregációjával kapcsolatos degeneratív betegségek, mint pl. az Alzheimer- és Parkinson-kór. Munkánk során az MHC-I molekula egyik alegysége, a vesedialízishez kötött amiloidózis kialakulásáért felelős β_2 -mikroglobulin (β_2m) *in vitro* aggregációját vizsgáltuk. A folyamat erősen nukleációfüggő, magok hozzáadására a β_2m késedelem nélkül amiloid szálakat képez, míg a tisztán monomereket tartalmazó oldat polimerizációja csak hosszú lag-fázis után indul el. Az irodalomban a spontán nukleáció jelenségével magyarázzák a lag-fázis végét jelentő felgyorsult reakciót. Korábbi eredményeink azt mutatták, hogy hőkezelés hatására a β_2m szálak monomerekre disszociálnak, mellyel egyidejűleg a szálak törése is bekövetkezik. Ezzel növekedésre képes új szálvégek keletkeznek, mely a repolimerizáció sebességét növeli. Az eredmények alapján lehetségesnek tartottuk, hogy a szálak törése végbe megy fiziológiás hőmérsékleten, 37°C-on is. Ennek kimutatásához hosszú szálakat növesztettünk alacsony magkoncentrációt alkalmazva, de az ilyen polimerizációk esetén is tapasztaltunk lag-fázist és felfutást, ami nem lehet a spontán nukleáció eredménye. Feltételeztük, hogy a törés szerepet játszhat a polimerizáció kezdeti fázisában is, és ez tehető felelőssé a lag-fázist követő felfutásért. Hipotézisünket a reakció kinetikájának fluoreszcencia spektroszkópiai vizsgálataival és elektronmikroszkópos felvételekkel bizonyítottuk. Kimutattuk, hogy a szálak érzékenyek a mechanikai behatásokra. Alkottunk egy modellt és egy számítógépes szimulációt, mellyel a kísérleti eredményekhez illeszthetők a száeloszlásra és kinetikára vonatkozó elméleti paraméterek. Ennek segítségével olyan fizikai paraméterek tudunk majd a későbbiekben meghatározni, amelyek kísérletes úton nehezen vagy egyáltalán nem mérhetőek, pl. kritikus szálhossz, legrövidebb szálhossz, és száeloszlás. Eredményeink arra utalnak, hogy a spontán nukleáció nem az egyetlen nukleációs magot eredményező folyamat, és hogy *in vivo* akár egyetlen β_2m amiloid szál kialakulása szerepet játszhat a törése révén a betegség kifejlődésében.

BIOKÉM1-6

A aktivált XIII-as véralvadási faktor és szubsztrátja kölcsönhatásának vizsgálata

Pénzes Krisztina

IV. molekuláris biológus

DE OEC Klinikai Kutató Központ

témavezető: Dr. Muszbek László egyetemi tanár

A véralvadás XIII-as faktora (FXIII) alapvető szerepet játszik a hemosztázis fenntartásában. Legfontosabb funkciója a fibrinláncok keresztkötése és az α -2-plazmin inhibitornak (α_2 PI), a plazmin-mediált fibrinolízis fő inhibitorának az α -fibrinlánchoz történő kötése.

Intézetünkben a FXIII aktivitásának meghatározására kifejlesztésre került egy UV fotometriás funkcionális teszt, melyben az aktivált FXIII a glicinetilészter és az α_2 PI N-terminális dodekapeptid szekvenciájával azonos glutamin donor peptid szubsztrát izopeptid kötéssel történő összekapcsolódását katalizálja. A reakció során keletkezett ammónia mennyiségét GLDH által katalizált NADPH-NADP átalakulással járó indikátor reakcióban 340 nm-en fotometriásan mérjük. Az eredeti dodekapeptid szubsztrát módosításával olyan oligopeptideket szintetizáltunk, melyek szubsztrát, esetleg inhibitor tulajdonságának meghatározása hozzájárul az enzim-szubsztrát kapcsolat jobb megértéséhez.

Szisztematikusan, egyesével lecsökkentettük a szubsztrát tagszámát egészen 4 aminosavra, ill. az eredeti tagszámú dodekapeptid 2. és/vagy 4. glutaminját aszparaginra cseréltük, továbbá megszíntetizáltuk a szubsztrát C-terminális oldalának utolsó 6 ill. 8 tagjának megfelelő hexa- ill. oktapeptideket. A Merrifield-féle szilárd fázisú szintézissel általunk előállított peptidek tisztaságát reverz fázisú HPLC-vel, tömegüket MALDI-TOF-fal ellenőriztük.

Felvettük az egyes oligopeptidek – mint potenciális FXIIIa szubsztrátok-telítési görbéjét és ezekből kiszámítottuk az egyes peptidekre jellemző enzimkinetikai paramétereket. Az enzim aktivitást nem mutató peptidek gátló hatását is teszteltük.

Az Asn1 fontos az enzim szubsztrát kapcsolatban. A peptidek lánchosszának C-terminálisan történő csökkentése a katalitikus hatékonyság fokozatos csökkenését eredményezi, azaz a 7-12-es aminosavak szükségesek az enzim-szubsztrát kapcsolathoz. A 4-es pozícióban lévő Gln nem szubsztrátja a FXIIIa-nak, ugyanakkor szerepe van a hatékony enzim-szubsztrát kapcsolatban.

Az NMR STD spektrumban a Leu és a Thr metil jelénél észleltünk effektust, ami arra enged következtetni, hogy ezen csoportokkal való hidrofób kölcsönhatások jelentős szerepet töltenek be a FXIIIa és szubsztrátja közötti kapcsolatban.

BIOKÉM1-7

A matrilin-2 moduljainak szerepe az oligomerizációban és a fonalas hálózat képzésben

Rottenberger Zsolt

biológus (2006)

SZTE TTK Molekuláris Biológiai és Genetikai Tanszék

témavezető: Dr. Deák Ferenc tudományos tanácsadó

konzulens. Dr. Boros Imre tanszékvezető egyetemi tanár

A matrilin-2 megtalálható többféle kötőszövet sejtközütti állományában, valamint hámsejtek alapi membránjában. Kollagénhez kapcsoltn és attól függetlenül is sejtközütti fonalas hálózatot alkot. Korábban elektroforézissel és elektronmikroszkópiával a fehérjét mono-, di-, tri- és tetramerek keverékeként mutattuk ki. Ugyanakkor az oligomer képződésért felelős, a fehérje COOH-végén található 38 aminosav trimert formál *in vitro*. Tehát az oligomerizációt a fehérje többi része is befolyásolja. Célunk az volt, hogy rávilágítsunk, mi az egyes szerkezeti elemek szerepe a matrilin-2 szupramolekuláris szerveződésében, és a fonalas hálózatba épülésében.

Az oligomerizáció követésére rekombináns matrilin-2 fehérjéket termeltettünk meg. Mindegyik rekombináns fehérje változat hordozta a fehérje második von Willebrand-faktor A-modulját, az alfa-helikális oligomerizációs modult, illetve a köztük lévő egyedi szekvenciát. A matrilin-2 alternatív RNS vágás következtében kialakuló izoformái az egyedi szegmensben különböznek. Megtermeltettük mindkét izoformát, és az egyedi modul nélküli változatot is. Mindegyik formát elláttuk NH₂-végi vagy COOH-végi *tagekkel*, hogy megkönnyítsük a termelt fehérjék kimutatását és tisztítását.

Megállapítottuk, hogy mindhárom matrilin-2 konstrukció alapvetően trimert képez. A leghosszabb változat emellett multimérékké is szerveződik. Irányított mutagenézissel bizonyítottuk, hogy a két izoforma közt egyetlen cisztein felelős azért, hogy a trimerek multimérékké kapcsolódjanak. Mindegyik forma mutat nagy elektroforetikus mozgékonyaságú sávokat is, amelyek proteolízissel jöttek létre. Ezek aránya az egyedi szegmenset nem tartalmazó matrilin-2 esetében a legkisebb, utalva arra, hogy a proteolitikus hasítás helye az egyedi szegmens. MALDI-TOF analízissel is bizonyítottuk, hogy a rövidebb matrilin-2 főként trimert képez, de kimutattunk részleges trimert is, valamint a proteolízis termékeit is. Tehát a matrilin-2, többféle oligomerizációs formát képes kialakítani. Emellett igazoltuk, a fehérjében lévő von Willebrand modulok önmagukban elegendőek saját molekulákkal alkotott hálózat létrehozására. Mindezek az elemek hozzájárulnak a fonalas hálózat szerkezeti és funkcióbeli komplexitásához.

BIOKÉM1-8

A hypoxia és a PPAR receptorok kölcsönhatásának vizsgálata egér szívizomsejten

Simándi Zoltán

IV. molekuláris biológus

DE ÁOK Biokémiai- és Molekuláris Biológiai Intézet

témavezetők: Dr. Bálint Bálint László egyetemi tanársegéd

Dr. Nagy László egyetemi tanár

A kardiovaszkuláris megbetegedéseknek nemcsak Magyarországon, hanem az egész világon vezető szerep jut, a halálokok mintegy 30%-át képezik. Ezen megbetegedések körébe tartozik a szívinfarktus, melynek során az artériás elzáródás következtében *hypoxia* alakul ki a szívizomban. A *hypoxia* a szövetet vagy sejteket érő normálisnál alacsonyabb oxigénszint, ami sejtelhaláshoz, a szerv működésének károsodásához vezet.

Intenzív kutatások folynak olyan vegyületek iránt, melyek alkalmasak lehetnek a szívinfarktus okozta szövetkárosodás mérséklésére, egyfajta protektív hatás kialakítására. Kísérleteink során a magreceptorok családjába tartozó PPAR (*Peroxisome proliferator-activated receptor*) lehetséges szerepét vizsgáltuk a védelmi folyamatokban.

Munkacsoportunk egér állatmodellben elvégzett kísérletei azt mutatják, hogy a PPAR α agonista ciprofibrát hatására a reperfüziót követően kevésbé csökken az aortán- és koronárián percnként átáramló vér mennyisége, a kamrai fibrilláció előfordulása a kezeletlen csoportban mért 80%-ról közel 0%-ra redukálódik, és a szövetkárosodás mértéke felére csökken. Célunk az állatkísérlet eredményeinek *in vitro* reprodukálása, a molekuláris mechanizmust részletesebb megismerése, a PPAR receptor szerepének definiálása volt. Vizsgálatainkhoz AT-1 egér pitvari szívizomdaganatból létrehozott, immortalizált sejtvonalat, a HL-1-et használtuk. Három ligandkezelés (két PPAR α : ciprofibrát és Wy14,643, illetve egy PPAR γ agonista: rosiglitazone) hatását tanulmányoztuk hypoxiás állapotban. Az alkalmazott módszerek: az RNS mennyiség meghatározására RT-QPCR-t, a szövetkárosodás mértékének detektálására LDH-enzimaktivitás-mérést, a mitokondriumszám detektálására áramlási citométert használtunk.

Eddigi eredményeink azt mutatják, hogy a hypoxiát követően a ligandkezelt sejtek károsodása kisebb mértékű; PPAR α agonista hatására egyes, hypoxiás állapotában indukálódó gének (pl. VEGF α , CPT-1) szintje már az előzetes ligandkezelés hatására nő, de az agonisták hatásukat nem a már ismert HO-1 indukálásán keresztül érik el. Méréseink szerint hypoxia hatására nő a sejtek mitokondriumszáma, és az előzetes Wy14,643 kezelés önmagában is hasonló hatást vált ki. Eredményeink alátámasztják azt az elképzelést, miszerint PPAR α agonisták hatására a szívizomsejtekben egy előzetes prekondicionálás történik, így a hypoxiát követő sejt- és szövetkárosodások mértéke csökken. A kísérletsorozat egy még ismeretlen hatásmechanizmus lehetőségét veti fel, melynek feltárása a gyógyszeres megelőzést segítheti.

A titin PEVK domén poliglutamát motívum szerkezete és mechanikája

Szatmári Dávid

V. biológus

PTE TTK

témavezetők: Ifj. dr. Kellermayer Miklós egyetemi docens

Dr. Nagy Attila egyetemi tanársegéd

A harántcsíkolt izom rugalmasságáért elsősorban a titin óriásfehérje a felelős, az izomszarkomer Z- és M-csíkja között húzódó, 3-3,6 MDa tömegű fehérje. A fiziológias megnyújthatóságáért elsősorban egy prolinban (P), glutamátban (E), valinban (V) és lizinben (K) gazdag, ún. PEVK domén felelős. A domént két féle motívum, a PPAK és polyE (poliglutamát) építi fel. A polyE motívumban a glutaminsav oldalláncok töltöttek, várható, hogy a motívum szerkezetét, dinamikáját és mechanikáját jelentősen befolyásolja a változó kationkörnyezet.

Kísérleteinkben a soleus izom titin 18433-18648 aminosavai közé eső "polyEPI" fragmentum $[K^+]$ - és $[Ca^{2+}]$ -függő rugalmasságát és szerkezetét vizsgáltuk. A molekula N-terminálisa közelében egy triptofán található, amely lehetővé teszi a szerkezet fluoreszcencia spektroszkópiás vizsgálatát. A polyEPI fragmentumot humán cDNS könyvtárból PCR-technológia és klónozási eljárás segítségével sikeresen expresszáltuk BL21 sejtekben, majd natív körülmények között tisztítottuk Ni-kelát oszlopon.

A fragmentum rugalmasságát egyedi molekulák atomerőmikroszkóppal (AFM) történő manipulálásával vizsgáltuk. A mérésekben regisztrált erő-megnyúlás adatokra a féregszerű (worm like-chain, WLC) entrópius polimermodell egyenletét illesztettük, melyből megkaptuk a hajlítómerevségét jellemző látszólagos perzisztenciahosszt (L_p). A $[K^+]$ növelése során a L_p lecsökkent, ami a töltésárnýékolás hatására fellépő csökkent elektrosztatikus kimerevedéssel magyarázható. $[Ca^{2+}]$ -függő fluoreszcencia spektroszkópiai méréseket pCa 9 és pCa 4 közötti tartományon végeztünk. A $[Ca^{2+}]$ pCa 9-ről pCa 4-ra történő emelése a triptofán emisszió (Em_{350}) növekedésével járt, ami $[Ca^{2+}]$ -függő szerkezetváltozásra utal. A szerkezetváltozás további vizsgálatát akrilamiddal történő fluoreszcencia kioltási kísérleteket végeztünk. pCa 9-en a kioltási (Stern-Volmer) állandó (K_{SV}) 4.2 (± 0.2) volt, pCa 4-en pedig 3.2 (± 0.1). A $[Ca^{2+}]$ növelését kísérő K_{SV} csökkenés arra utal, hogy a triptofán oldat számára való hozzáférhetősége csökkent. Feltételezzük, hogy a polyEPI fragmentum szerkezete kalcium ionok kötődése miatt kompaktabbá vált. Eredményeink arra utalnak, hogy a titin PEVK domén szerkezete és rugalmassága finoman hangolható különböző kationok koncentrációinak változtatásával.

BIOKÉM1-10

Sejtmagreceptor-koregulátor kölcsönhatás dinamikájának in vivo vizsgálata fluoreszcens mikroszkópiával

Szekeres Tibor

V. biológus

DE OEC Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

témavezető: Dr. Vámosi György tudományos főmunkatárs

Sejtmagreceptorok nevezzük azt a transzkripciós faktort, amely lipofil természetű ligand hatására aktiválódik. Ilyen receptor a reténsav receptor (RAR) és a retinoid X receptor (RXR), amelyek dimereket képezve segítik elő a koregulátorokkal és az RNS-polimerázzal kialakuló transzkripciós komplex létrejöttét.

Célunk egy olyan modellrendszer létrehozása, melynek segítségével kvantitatívan tudjuk vizsgálni a receptorműködés lépéseit, a receptor-koregulátor kölcsönhatás dinamikáját az egyedi, élő sejtek szintjén, nagy érzékenységgű, fluoreszcencián alapuló biofizikai módszerekkel. A fluoreszcencia korrelációs spektroszkópia (FCS) alkalmazásával lehetőségessé válik szubfemtoliteres térfogatban, kis koncentrációban, élő sejteken vizsgálni a molekulák mobilitását és kölcsönhatásait.

Létrehoztuk az RAR, RXR receptorok, továbbá a DRIP, ACTR koaktivátorok, valamint az SMRT korepresszor zöld (EGFP) és vörös (mRFP) fluoreszcens fehérjékkel alkotott fúziós fehérjéit. A klónozás sikerességét szekvenálással, és gélelektroforézissel ellenőriztük. A fehérje-hibridek megőrizték transzaktivációs és interakciós képességüket, amit emlős kettős-hibrid rendszerből nyert eredményeinkkel is alátámasztottunk. A tranziens transzfekciós protokollt alacsony expressziós szintre optimalizáltuk a BeLa sejtvonalra, mert az FCS méréseknek az alacsony koncentráció kedvez. Konfokális mikroszkóppal igazoltuk a fluoreszcens fehérjék maglokalizációját. A citoplazmában és a sejtmagban végzett mérések a diffúziós idők szignifikáns különbségét mutatták. Megállapítottuk továbbá, hogy az alacsonyabb diffúziós idővel rendelkező, kisebb molekulatömegű komplexek száma ligand-kezelés hatására lecsökken, míg a nagyobb diffúziós idővel rendelkező, lassabban mozgó, nagyobb (vagy helyhez kötött) komplexek száma jelentősen megnő. Ez jelentheti a transzkripciós "mega" komplex létrejöttét, és a transzkripció kezdetét.

További célunk megvizsgálni a kialakuló komplexekben a molekulák elhelyezkedését, asszociációit. Ezt keresztkorrelációs spektroszkópiával (FCCS) és fluoreszcencia rezonancia energia transzfer (FRET) segítségével fogjuk tanulmányozni.

**In vitro tesztrendszer kifejlesztése Alzheimer-kórt megelőző/ befolyásoló
gyógyszerkészítmények vizsgálatára**

Winter Zoltán,

V. biológus

SZTE TTK Genetikai és Molekuláris Biológiai Tanszék

témavezető: Dr. Sántha Miklós tudományos főmunkatárs

konzulens: Dr. Boros Imre egyetemi tanár

Az Alzheimer-kór korunk egyik leggyakoribb neurodegeneratív betegsége, mely még napjainkban is gyógyíthatatlan, csak tüneti kezelése lehetséges. A fejlett országokban a halálozási okok között a negyedik helyen szerepel. Az átlagéletkor emelkedésével a betegek számának drasztikus növekedésére számíthatunk.

A betegség a demencia egyre fokozódó megjelenésével, a kognitív funkció beszűkülésével, viselkedési zavarral és az elbutulást követően kialakuló gyors biológiai leépüléssel jellemezhető, amely általában a diagnózist követően 7-10 éven belül a beteg halálához vezet. Az Alzheimer-kór legfontosabb jellegzetességei: az agyszövet nagyfokú atrofíája, amyloid plakkok kialakulása bizonyos agyterületeken, illetve neurofibrilláris kötegek megjelenése. A betegség elsősorban a szinapszisok és a kolinerg neuronok pusztulásával jár.

A β -amyloid plakkok az amyloid β -peptid extracelluláris aggregátumai. Az amyloid β -peptid egy 4 kDa fehérjetömegű önaggregálódó, 39-43 aminosav méretű metalloprotein termék, ami a β - és γ -szekretázok általi proteolitikus hasítással az amyloid precursor proteiből képződik. Számos *in vitro* és *in vivo* vizsgálat kimutatta az A β közvetlen toxicitását a neuronokra és azt, hogy jelenléte a tau protein másodlagos foszforilációjához és aggregációjához vezet.

Csoportunkban olyan molekulák és növényi kivonatok vizsgálatát kezdtük el, amelyek lassíthatják és/vagy megakadályozhatják a β -amyloid plakkok kialakulását, illetve a már létrejött amyloid plakkok megbontását, feloldását segíthetik elő, és ezáltal kedvezően befolyásolják a betegség lefolyását. Ezen anyagok hatását először *in vitro*, rekombináns baktériumokban termeltetett és tisztított β -amyloid fehérje aggregátumokon kívánjuk vizsgálni, a későbbiekben pedig különböző élő modell szervezeteken. Elsődleges célunk olyan *Escherichia coli* baktérium törzsek előállítását, amelyek nagy mennyiségben képesek a β -amyloid peptid fúziós fehérjeként való termelésére, és egy olyan *in vitro* tesztrendszer kifejlesztése, amely potenciális gyógyszeralapanyagok nagyáteresztő képességű (high-throughput) előzetes vizsgálatára alkalmas.

BIOKÉMIA 2. TAGOZAT

ABC-transzporter fehérjéket felismerő monoklonális ellenanyagok előállítása és jellemzése

Ambrus Csilla

molekuláris biológus (2006), I. PhD hallgató

DE OEC Immunológiai Intézet

témavezető: Dr. Rajnavölgyi Éva egyetemi tanár

Az ATP kötő kazetta (ABC) fehérjék családjának tagjai minden szervezetben megtalálhatók, legtöbbjük membrán transzporterként működik. Vizsgálataink célja a humán ABC fehérjék MRP/CFTR alcsaládjába tartozó MRP6 és a White alcsalád ABCG5 és ABCG8 fehérjéit specifikusan felismerő monoklonális ellenanyagok előállítása volt. Az MRP6 funkciója még nem tisztázott, az ABCG5 és ABCG8 proteinek elsősorban a szterolok abszorpciójában és excretiójában játszanak szerepet. A kiválasztott fehérjékkel specifikusan reagáló ellenanyagok nem állnak rendelkezésre.

Az ellenanyagok előállítását két eltérő stratégiával próbáltuk meg: **1)** a fehérjék ismert aminosav szekvenciája alapján potenciális B-sejt epitópokat prediktáltunk és a kiválasztott szakaszt magába foglaló szintetikus peptideket immunogén fehérje hordozóhoz (KLH) kapcsolunk, a KLH-peptid konjugátummal immunizáltunk. Az immunizált egerek szérumában a peptid ellenes immunválasz mértékét enzim immunoassay (EIA), a membránfehérjével való reaktivitást immunoblotol vizsgáltuk. A sejtfúziót követően hasonló eljárással választottuk ki a specifikus ellenanyagot termelő hibridómákat. **2)** a transzporter fehérjék funkcionális doménjét (1-381 aminosav) GST-fehérje formában *E. coli*-ban fejeztük ki, PVDF membránhoz kötve egerek lépébe transzplantáltuk, a további immunizálási lépéseknél is GST-fehérjét alkalmaztunk. A membránfehérjékkel reagáló ellenanyagok kimutatására beállítottuk a nagy érzékenységű ELISPOT módszert.

Az ELISPOT módszer bevezetésével olyan, csak az ABCG5 fehérjével reagáló ellenanyagot termelő hibridómákat sikerült azonosítani, amelyek nem adnak reakciót a nagy szerkezeti rokonságot mutató ABCG8 fehérjével. Az eljárással sikerült néhány MRP6 peptidet felismerő monoklonális ellenanyag fehérje felismerő aktivitását is igazolni.

Az ELISPOT módszer bevezetése a peptid és GST-fehérje antigének mellett lehetővé tette teljes membránfehérjék vizsgálatát és a megfelelő specificitású hibridómák gyors szűrését. Az ellenanyagok egy hosszú távú fejlesztési program részeként számos további módszertani, elméleti kérdés megválaszolását teszik lehetővé. Az általunk kifejlesztett ellenanyag előállítási és szűrési stratégia egyéb membránba ágyazott fehérjékkel reagáló ellenanyagok előállítására is gyors, megbízható eljárást kínál.

BIOKÉM2-2

Kémiailag módosított α -kimotripszin stabilitásvizsgálata szerves oldószeres közegben

Cseri András

V. biológus

SZTE TTK Biokémiai Tanszék

témavezető: Lehoczkiné dr. Simon Mária egyetemi docens

Az enzimeket napjainkban az ipar számos területén alkalmazzák, szerves vegyületek szintézisének, illetve analitikai célból. Az utóbbi időben előtérbe került az enzimek hagyományostól eltérő közegű alkalmazása, ugyanis például szerves oldószeres közegben megvalósítható számos szintetikus reakció (Pl.: peptid-és észterszintézis hidroláz enzimek segítségével). A szerves oldószeres gyakran inaktíválják az enzimeket. Stabilizálásukra számos módszer áll rendelkezésre: genetic engineering, rögzítés, adalékanyagok alkalmazása és az enzimek kémiai módosítása.

Vizsgálataink célja az α -kimotripszin kémiai módosítása különböző szénatomszámú karbonsav anhidridek segítségével (ecetsav-, propionsav-, ftálsav-, borostyánkősav-, citrakonsav-anhidrid). A módosítás során a karbonsav anhidridek kovalens kötést létesítenek az enzim lizil-oldalláncainak primer aminos csoportjával. Így acil-kimotripszin keletkezik. A módosított enzim stabilitását eltérő polaritású, vízzel elegyedő szerves oldószeres közegben vizsgáltuk (etanol, acetonitril, 1,4-dioxán, tetrahidrofuran). Az oldószer koncentrációt 10-90 tf% között változtattuk. Kísérleteink során a módosított enzim aktivitását spektrofotometriásan követtük. A fehérjeszerkezetben bekövetkezett változásokat belső fluoreszcencia mérésekkel vizsgáltuk. Kísérleti eredményeink azt mutatták, hogy valamennyi felsorolt karbonsav anhidriddel történő módosítás hatására nőtt a α -kimotripszin aktivitása és stabilitása a vizsgált oldószeres közegben. A legnagyobb, 200 %-ot meghaladó mértékű aktivitás növekedés a ftálsav-anhidriddel módosított enzim esetében volt megfigyelhető. A szerkezetvizsgálatok eredményei a két fluoreszcenciás paraméterre vonatkozóan a következőképpen alakultak: a módosított enzimek $\lambda_{\max}$ értéke nem mutatott szignifikáns eltérést a kontroll enzimhez viszonyítva, az $I_{\max}$ értékében viszont jelentősebb eltérések mutatkoztak az egyes enzimformák között.

Kísérleteink során sikerült olyan módosított α -kimotripszin formákat létrehozni, melyek nagyobb stabilitással rendelkeztek a vizsgált szerves oldószeres közegben, mint a natív enzim.

BIOKÉM2-3

Ferulaldehid hatása bakteriális endotoxin-indukálta szeptikus sokkban

Dolowschiák Tamás

V. biológus

PTE ÁOK Biokémiai és Orvosi Kémiai Tanszék

témavezető: Ifj. dr. Gallyas Ferenc egyetemi docens

konzulens: Dr. Molnár László egyetemi docens

A sepszis, illetve a szeptikus sokk a kórházi intenzív osztályokon bekövetkező halálesetek egyik leggyakoribb okozója. A megbetegedés világviszonylatban évente 18 millió embert érint, s a fejlett társadalmakban az ebből származó halálesetek száma közel megegyezik a szívinfarktus áldozatainak számával. A betegség leggyakoribb formája a Gram-negatív bakteriális sejt-falkomponens, a lipopoliszacharid (LPS) által okozott endotoxikus sokk.

Korábban már több növényi antioxidáns hatását vizsgálták a gyulladásos folyamatokban. Kísérletünkben a számos növényben megtalálható, sikimát-Phe-kumarát útvonalon képződő ferulaldehid (4-hidroxi-3-metoxi-fahéjaldehid, FA) hatását tanulmányoztuk LPS által indukált szisztémás megbetegedésben. Vizsgálatainkat RAW 264.7 egér makrofág sejt-vonalon és C57BL/6 egereken végeztük. A gyulladásos folyamatok tüneteként megjelenő ödémás elváltozásokat MRI-vel, egy noninvaszív és nondestruktív képi diagnosztikai technikával követtük nyomon. Az akut fázist kialakító, a szeptikus sokkra jellemző korai citokinek, mint a TNF α , az IL-1 β és IL-6 szintjét egyaránt mértük szérumból és médiumból. Ugyanezen körülmények között vizsgáltuk a citotoxikus aktivitás- és gyulladásgátló IL-10 koncentrációját is.

A sejt-felszíni receptorokon kötődő ligandok különböző védekező illetve nekrotikus/apoptotikus jelátviteli útvonalakat aktiválnak. Kísérleteinkben a gyulladásos folyamatokban leginkább meghatározó szerepű MAPK (p38, SAPK/JNK, ERK $^{1/2}$) és PI3K/Akt útvonalakat vizsgáltuk. Ezen enzimek kvalitatív és kvantitatív azonosítását foszforilációjukra specifikus antitestekkel, Western-blott technikával végeztük. A mechanizmust a génexpresszió módosításával szabályozó transzkripciós faktorok legfontosabb képviselője az NF- κ B, melynek aktivációját májból izolált sejtmagfrakcióból mértük ELISA technikával. Végül a ferulaldehid gyökfogyó sajátosságát és a reaktív NO termelő iNOS expressziójának gátlását a keletkező NO $_2^-$ szint mérésével ellenőriztük.

Kísérleteink eredményeiből megállapítottuk, hogy a FA gátolja a gyulladásos tünetek kialakulását a gastrointestinalis tractusban, csökkenti a szérum TNF α és IL-1 β szintjét, ugyanakkor a citoprotektív IL-10 mennyiségét növeli. A JNK- és Akt útvonalakon, gátolva a foszforilációt, csökkenti az LPS indukálta NF- κ B aktivációt a májban. Jelentős gyökfogyó tulajdonsága mellett a FA jelátviteli útvonalakra kifejtett hatását a makrofágokban nem tapasztaltunk.

BIOKÉM2-4

***Aspergillus nidulans* kitináz B (*ChiB*) jellemzése és a *ChiB* gén
heterológ expressziójának kidolgozása**

Erdei Éva

V. biológus-biotechnológus

DE TTK Mikrobiális Biotechnológiai és Sejtbiológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Barna Teréz egyetemi adjunktus

Dr. Pusztahelyi Tünde egyetemi tanársegéd

A kitin lineáris, N-acetil- β -D-glükózamin egységekből β -1,4-glikozidos kötéssel felépülő biopolimer, amely a gombák sejtfalának elsődleges szilárdító eleme. A kitin hidrolízisére képes enzimek a kitinázok, amelyeknek számos fiziológiai szerep jut, pl. a spóra csírázásban, a fonalak növekedésében, az elágazódások létrehozásában és az autolízisben. *Aspergillus nidulans* fonalas gomba tenyészetekben az autolízis idején a tápközeg kitináz aktivitása jelentősen megnövekszik és a vizsgálataim alapján ez az aktivitás a ChiB fehérjéhez köthető, amely endokitináz aktivitással bír és képes a sejtfal hatékony bontására. Mivel a fehérje jelentőségét az autolízisben már igazolták, célul tűztam ki heterológ expressziójának kidolgozását abból a célból, hogy tanulmányozhassuk a kitináz enzim szerkezet/funkció kapcsolatát, amelyből következtethetünk működési mechanizmusára és a katalitikusan aktív aminosavakra. Az autolitikus szakaszban lévő gombából kinyert mRNS tartalmat cDNS-re írtam át és a *chiB* cDNS-t PCR segítségével felszaporítottam. Majd az így megkapott *chiB* cDNS-t sikeresen inwertáltam pJC40 expressziós vektorba, amelyet transzformáltam *Escherichia coli* BL-21(DE3)pLysS sejtekbe. A ChiB heterológ expresszióját optimalizáltam a tenyésztési hőmérséklet, az indukciós pont, és az IPTG koncentráció változtatásával a minél nagyobb mennyiségű szolubilis fehérje kinyerésére. További terveim között szerepel a natív enzim és a rekombináns enzim összehasonlítása, az enzim aktív centrumának a jellemzése, valamint a rekombináns enzim kitermelésének további optimalizálása röntgenkristallográfiás célokra.

Magreceptor ligandok okozta génexpressziós vizsgálatok egér makrofág és dendritikus sejteken

Farkas Anita

IV. molekuláris biológus

DE OEC Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet

témavezető: Dr. Szántó Attila egyetemi tanársegéd

Az érlelmeszesedés az ereket károsító súlyos keringési rendellenességhez vezető komplex betegség. Oka: zsírtartalmú anyagok lerakódása az erek falára. Kialakulásában nagy szerephez jutnak olyan sejtek melyek az immunválaszban is nagy jelentőséggel bírnak. Ilyen sejt többek között a makrofág, melyek a subendotheliális térbe lépve nagy hatékonysággal veszik fel az LDL koleszterint. Mivel leadni már nem képesek ún. habos sejtekké alakulni, mely kedvez az atheroscleroticus plakkok kialakulásának. A habos sejtek környezetében egy gyulladásos folyamat indul el, melynek hatására más immunsejtek is felhalmozódnak. Ilyen például a dendritikus sejt, melyek szerepe az érlelmeszesedésben még ismeretlen. Ezért szintetikus magreceptor ligandok segítségével szeretnénk megismerni a két sejtípus lipidanyagcseréjében megfigyelhető különbségeket, hogy jobban megismerjük a dendritikus sejtek szerepét az érlelmeszesedésben.

A magreceptorok olyan intracelluláris molekulák, melyek ligandaktiváció hatására a célgénjeik promóteréhez kötődve az adott gén expresszióját szabályozzák.

Célunk az volt, hogy szintetikus ligandok segítségével olyan magreceptorok aktivációját fokozzuk, melyeknek nagy szerepe van a lipidmetabolizmusban. Ilyen az LXR:RXR heterodimer (Liver X Receptor: Retinoid X Receptor). Az LXR az érlelmeszesedés kutatás egyik legáltalánosabban kutatott magreceptora, ugyanis számos olyan gént regulál melyeknek szerepe van a lipid- és koleszterinmetabolizmusban.

A kísérlethez egér csontvelői őssejtből citokinek segítségével differenciáltatott makrofágokat (MΦ) és dendritikus sejteket (DC) használtunk, melyeken ligandkezelés után génexpressziós változásokat figyeltünk meg kétféle technikával. Az egyik az RT-QPCR technika, mellyel a vizsgált génről készült mRNS relatív kópiaszámát tudtuk meghatározni. A DNS-microarray-vel történő analízis egy átfogóbb képet nyújt nekünk az LXR:RXR heterodimer által szabályozott gének ligandkezelés utáni változásairól.

A Q-PCR eredmények nyilvánvaló különbséget mutattak a ligandkezelés után az LXR célgének relatív kópiaszámában a két sejtípusban. Megfigyelve ezt a különbséget a microarray adatokban is, megállapíthatjuk, hogy a MΦban és DC-ben alapvetően különbözik a lipidmetabolizmusban szerepet játszó gének LXR általi szabályozása. A microarray eredmények lehetővé teszik számos új célgén azonosítását melyek szintén LXR szabályozása alatt állnak, továbbá hozzájárulnak az érlelmeszesedés molekuláris mechanizmusának pontosabb megismeréséhez.

BIOKÉM2-6

Árpa alfa-amiláz izoenzim mutánsainak vizsgálata, alhely térkép készítése

Fazekas Erika

DE TTK biológus

DE TTK Biokémiai Tanszék

témavezető: Dr Gyémánt Gyöngyi egyetemi adjunktus

A sörgyártás folyamatának lényege alkohol termelése növényi alapanyagokból. Az élesztő az egyszerű cukrok alkohollá és széndioxiddá alakítására képes, de a keményítő nem hasznosítható szénforrás az élesztő számára. A keményítő oligoszacharidokká való bontását az árpa amilázok katalizálják a malátásítás során. Ez a folyamat azonban relatíve drága és nehezen szabályozható, ezért kutatások történtek olyan ipari enzimek mutációval történő előállítására, amelyekkel a malátásítás folyamata gyorsan és kontroláltan történhet.

A Biokémiai Tanszéken korábban 3-12 tagszámú kromofor csoportot tartalmazó maltooligomer sorozatokat szintetizáltak és ezek segítségével vizsgálták a két árpa amiláz izoenzim (AMY1 és AMY2) bontási képét. Elkészítették az alhely térképeket, amelyek egyértelműen mutatják a kötő alhelyek számát és a katalitikus hely elhelyezkedését ezeken belül, valamint az alhelyek kötési energiáit. A számításokhoz Windows alapú számítógépes program készült. Mindkét izoenzim kilenc kötőhellyel rendelkezik, de eltérés van a bontási képben, ami az alhely térkép szerkezetében is jelentkezik.

Célul tűztük ki a Tirozin105Alanin/Treonin212Tyrozin (Y105A/T212Y) AMY1 mutáns vizsgálatát és alhely térképének a meghatározását. A termékanalízishez HPLC-s elválasztást használtunk. A különböző tagszámú termékek képződésének relatív hidrolitikus sebességét kötéshasítási frekvenciának (BCF) nevezzük. A BCF értékek megfelelnek a HPLC kromatogramon kapott csúcsok területszázalékának.

Oligomer szubsztrátok sorozatára meghatározott BCF értékekből alhely kötési energiákat számoltam az enzim kötő régiójának minden alhelyére. Az alhely térképeket összevetve jól látható a különbség az AMY1 és a mutáns amiláz enzim között. A mutáció egyértelműen megváltoztatta a bontási képet és így az alhely térképet is.

A tirozin 105 az enzim -6 alhelyén található. A -6 alhely energiája jelentősen lecsökkent, ami a szubsztrát kötésben lényeges szerepet betöltő aminosav aromás voltának fontosságát jelzi. Az aromás aminosav-alifásra történő cseréje nagy energia csökkenést okozott.

A treonin 212 az aglikon kötő régió határán helyezkedik el a +4 alhelyen, ami az AMY1 enzimben már nem kötő alhely. A T212Y mutáció nem befolyásolja lényegesen a +4 alhely energiáját, de megnöveli a +2 alhelyét, ami az alhelyek kooperativására utal, valamint arra, hogy ez az aminosav a többi kötő hely konformációját befolyásoló szereppel bírhat.

Különböző szőlőfajták flavonoid tartalmának vizsgálata

Hajla Sándor

IV. biológia-környezetvédelem

NYF TTFK Agrár és Molekuláris Kutató Intézet

témavezető: Dr. Dinya Zoltán egyetemi tanár

Kutatómunkám célja a régióban termelt különböző szőlőfajták terméseinek összehasonlító elemzése volt. A szőlő antioxidáns hatású flavonoidjainak kutatása ma már a világ számos helyén intenzíven folyik. Sejtjeink állandó veszélynek vannak kitéve, a káros szabadgyökök súlyosabb esetben az örökítő anyagot károsítják. Az antioxidánsok a legfontosabb gyökfogók, nélkülük a daganatos megbetegedések kialakulásának lehetősége megnövekszik. Bizonyított, hogy ezek az anyagok a szőlőhajban fordulnak elő.

Tizenkilenc szőlőfajtát vizsgáltam. Módszert dolgoztam ki a szőlő- szemek flavonoidjainak leghatásosabb kinyerésére. Módszeremmel a hatóanyagok kb.: 80 %-a nyerhető ki. Az így kinyert extraktokat UV-Vis, HPLC és HPLC-MS technikákkal analizáltuk. A vizsgált mintákból nagyszámú szerves összetevőt sikerült elválasztani és szerkezetileg jellemezni. A kék és a fehér szőlőfajták az antioxidáns hatóanyaguk szempontjából alapvetően különböznek.

A kék szőlőfajták 20-40-szer annyi antioxidáns hatású anyagot tartalmaznak, mint a fehér fajták. Vizsgáltam a szőlőfajták rezveratrol tartalmát és megállapítottam, hogy a vizsgált kék szőlőfajták rezveratrol tartalma, 10-25 mg/kg, míg a fehér szőlőfajtáké 2-4 mg/kg. A rezveratrol minimális szintre csökkenti a DNS mutációk mennyiségét és gátolja a szabadgyökök oxidációját.

Továbbá jelentősen csökkenti a szívinfarktus előfordulásának esélyét, mivel prekondicionálja a szívet a viszonylagos oxigénhiány elviselésére. A magasabb koleszterinszint miatt bekövetkező infarktus esetén, a kialakuló szívizomelhalás nagyságát is csökkenti.

BIOKÉM2-8

**Egy új proteáz-inhibitor variáns kifejlesztése fehérjemérnöki eszközökkel
szerin-proteázok hatékonyabb izolálására**

Héja Dávid
V. biológus
ELTE TTK Biokémiai Tanszék
témavezető: Dr. Pál Gábor egyetemi docens

Az ELTE Biokémiai Tanszékén több évtizede zajlik a szerin-proteázok kutatása. Ezen enzimeket a részletes vizsgálathoz nagy tisztaságban kell előállítani. A tisztítás során gyakran használnak egy a tanszéken előállított, *E. coli* baktérium által termelt széles specifitású inhibitor, az ecotint. Az ecotin homodimer fehérje, melyben a két alegység nem-kovalens módon kapcsolódik egymáshoz. Egy dimer egyszerre két proteázt képes gátolni. Eddig az ecotint úgy használták affinitáskromatográfiás célra, hogy a nem-kovalens dimert nem-irányított módon kötötték kovalens kötésekkel a szilárd felülethez. Ez két potenciális problémával jár: a molekulák egy része proteáz kötésre alkalmatlan módon rögzül a felületen, illetve a használat során azon dimerek, melyek csak egyik alegységükön keresztül rögzültek, elveszthetik a nem-kovalensen rögzített alegységet.

Ezen problémák elkerülésére rekombináns DNS technikákkal két lényeges változást hoztunk létre az ecotinban. Egyrészt az egyik alegység C-terminálisát egy rövid peptidszakasszal a másik alegység N-terminálisához kapcsoltuk. Az így létrehozott egyláncú formában a két alegység immár kovalensen kapcsolódik össze. Várakozásaink szerint az így kialakított stabil egyláncú forma megtartja a vad típusú ecotin eredeti aktivitását. Másrészt az összekötő peptidben elhelyeztem egy ciszteint. Ezen a felszíni ciszteinen keresztül az egyláncú ecotin elméletileg irányított módon köthető szilárd felülethez.

Az új ecotin variánst elkészítettem, és igazoltam, hogy nagy mennyiségben termelhető egyszerű bakteriális rendszerben. A fehérjét izoláltam, és enzimgátlás méréssel, valamint analitikai gélszűrőssel igazoltam, hogy a két változtatás eredményeként valóban olyan ecotin formát kaptunk, mely megőrzi az eredeti vad típusú forma aktivitását. Ugyancsak igazoltam, hogy a szabad ciszteinen keresztül az új forma irányított módon szilárd fázisra köthető, és sikeresen használható affinitáskromatográfiás célokra.

Készítettem egy affinitáskromatográfiás töltetet, mellyel egy lépésben el lehet választani proteázokat nagy mennyiségben jelenlévő szennyező fehérjéktől. Az új egyláncú cisztein mutáns ecotinon alapuló affinitáskromatográfiás eljárás részletes karakterizálásán, az oszlop kapacitásának és stabilitásának jellemzésén jelenleg dolgozom.

A *Thiocapsa roseopersicina* Hox hidrogenázának tisztítása affinitás kromatográfiával

Juhász Ildikó

V. biológus-IV. biológia

SZTE TTK Biotechnológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Kovács L. Kornél egyetemi tanár

Klem József tudományos segédmunkatárs

A hidrogenázok a H_2 bontására és termelésére képes enzimek, melyek széles körben elterjedtek az Archeák és Eubaktériumok körében. Napjainkban a biohidrogén előállítása ezekkel az enzimekkel kulcsfontosságú energetikai- környezetvédelmi szempontból. Munkahelyemen több éve foglalkoznak a *Thiocapsa roseopersicina* fototróf bíbor kénbaktérium hidrogenázaival. Kutatási témám a szolubilis Hox hidrogenáz tisztítása és biokémiai jellemzése.

A *Thiocapsa roseopersicina*-ban legalább négy különböző hidrogenázt azonosítottak (HynSL, HupSL, HoxEFUYH, HupUV). A Hox hidrogenáz szolubilis, öt alegységből épül fel (HoxEFUYH), H_2 felvételére és termelésére is képes, de fiziológiai funkciójának azonosítása még várat magára.

A *Thiocapsa roseopersicina* és más hozzá hasonló Hox hidrogenázok tisztítása nem sikerült eddig hagyományos kromatográfiás módszerekkel. Munkám során a HoxY C-terminális végét FLAG-StrepII jelöléssel láttam el. Affinitás kromatográfiával tisztítottam és azonosítottam az aktív enzimet, mértem a fehérje *in vivo* H_2 fejlesztő és *in vitro* H_2 fejlesztő és felvevő aktivitását.

További célom a tisztítás léptéknövelése, a tiszta hidrogenáz szubsztrátjainak pontos meghatározása, spektroszkópiai vizsgálatok elvégzése és a kristályosítás megvalósítása, mellyel a tiszta enzim szerkezetének, stabilitásának pontos meghatározása válik lehetővé.

BIOKÉM2-10

Mechanikai terhelés hatása egy enzimreakció kinetikájára

Sarlós Kata

IV. biológia-fizika

ELTE TTK Biokémiai Tanszék

témavezető: Dr. Kovács Mihály tudományos főmunkatárs

Az enzimműködés megértéséhez fontos megismernünk a fehérjék működését meghatározó fizikai és kémiai tényezőket. Az élő sejtekben számos enzim mechanikai terhelés alatt fejti ki működését, melynek fontos szerepe lehet pl. az enzimműködésének szabályozásában. A biokémiának a mechanikai terheléssel való kapcsolata az élő rendszerek igen fontos, ám eddig kevésbé kutatott sajátága.

A nem-izom miozin 2a (NM2A) a sejtosztódásban és -differenciálódásban szerepet játszó, a gerincesek szöveteiben általánosan előforduló motor. Az NM2A kedvező biokémiai sajátosságai miatt (nagy aktin- és ADP-affinitás) kiválóan alkalmas a mechanikai terhelés vizsgálatára. Kísérleteinkben az enzimátikus és mechanikai ciklus egyik kulcslépését, az ADP felszabadulást vizsgáltuk. Az NM2A terhelt állapota úgy áll elő, hogy a kétféjű miozin mindkét feje szerkezeti torzuláson megy keresztül az aktin filamentumon lévő szomszédos miozin kötőhelyek elfoglalása érdekében. Terheletlen állapotú kontrollként egyfejű miozin konstrukciókat használtunk. Az ADP felszabadulás kinetikáját egy olyan fluoreszcensen jelölt ADP segítségével vizsgáltuk, amely a jelöletlen ADP-vel azonos módon kötődik a miozinhoz, és kötődése rendkívül nagy fluoreszcencia-változással jár. Ezt a jelváltozást tranziens kinetikai módszerekkel vizsgáltuk. Kompetítorként jelöletlen ADP-t illetve ATP-t használtunk. A reakció hőmérséklet-függéséből meghatározott termodinamikai paraméterek azt mutatják, hogy a terhelés a reakció aktivációs energiáját, valamint a molekula energiatájképének belső sűrűdással jellemezhető profilját változtatja meg. Munkánk célja, hogy kvantitatív leírást adjunk a terhelés hatásáról az enzimreakció termodinamikai és kinetikai paramétereire, általánosítva ezt a többi enzimre, melyek mechanikai terhelés alatt dolgoznak.

Összefoglaló címe Poli- γ -glutaminsav- Fe^{3+} nanorendszer létrehozása és lehetséges környezetvédelmi alkalmazásai

Skribanek Róbert

IV. vegyész

DE TTK Kolloid- és Környezetkémiai Tanszék

témavezető: Dr. Borbély János egyetemi docens

Manapság a vízkezelés/vízisztítás a leginkább tanulmányozott területek egyike, ami az ipari tevékenységek és a világ népessége növekedésének tudható be. Számos elképzelés született már arra, hogyan lehetne optimalizálni azokat a technológiákat (tisztítás, szennyvíz újrahasznosítás) amelyekkel megelőzhető, illetve kontrollálható a szennyezés. A vizek toxikus fémion-szennyezettsége drámai is lehet: pl. az Pb^{2+} mérgező és akkumulálódik a csontokban. A Cu^{2+} és Zn^{2+} már kis koncentrációban is toxikus, csakúgy mint a Ni^{2+} , ami karcinogén is. Az általam vizsgált Fe^{3+} szintén mérgező, bár csak nagyobb dózisban. Gyermeknekél 20-30 mg/ttkg is már életveszélyes állapotot eredményezhet, míg felnőtteknél a toxikus adag ennek duplája. Az akut tünetek a vas-mérgezésnél: hányás, hasmenés, dehidratáció, ingerlékenység, kóma. Krónikus mérgezésnél máj- és hasnyálmirigy károsodás is bekövetkezhet. Ennél fogva, ezen ionok jelenlétükkel, melyeket általánosan használnak galvanizáló technológiákban, olyan ipari szennyvizeket eredményeznek melyek komoly veszélyt jelentenek a természetes vizek elszennyezésére. Szeparációs módszerek egész sora áll már rendelkezésre a fémionok vizes közegből történő eltávolítására: csapadékképzés hidroxidokkal, szulfidokkal vagy karbonátokkal, elektrokémiai redukció, adszorpció szilikagélén vagy szilárd hidroxidokon, ioncsere...stb. A polimerekkel végrehajtott nanoszűrés igen hatékony eljárás a toxikus nehézfémek eltávolítására. Számtalan kutatás foglalkozott már biopolimerek ilyen irányú felhasználásával. Ezek legelőnyösebb tulajdonságai, hogy biodegradálisek, biokompatibilisek és jó flokkulánsok. A vízzoldható bioanyagok, biopolimerek polielektrolitként viselkednek vizes közegben, és könnyen alakítanak ki kolloid rendszereket jó fémionmegkötő-képességük révén ionos kölcsönhatással. Az ilyen vegyületekkel képzett komplexek nanoszűréssel könnyen eltávolíthatók és eredményként a megfelelő tisztaságú víz újra hasznosítható.

A vizsgálataim célja stabil poli- γ -glutaminsav- Fe^{3+} komplex létrehozása és a keletkező rendszer tanulmányozása, valamint a fémion redukciójával nyerhető nanorészecskék előállítása. A kísérleteim során vizsgáltam a koncentrációk és a komponensek egymáshoz viszonyított arányának és a pH-nak a hatását a nanorendszer stabilitására ill. ezen változók hatását a részecskeméretre és méreteloszlásra.

A dolgozatban bemutatásra és elemzésre kerülnek a mérési adatok, analitikai módszerekkel nyert eredmények, különös tekintettel a stabilitásra, ami a rendszer alkalmazhatóságát jelentősen befolyásolja.

BIOKÉM2-12

Szerkezet-hatás összefüggés kimutatására irányuló *in vitro* vizsgálatok egy molekulakönyvtár és az MDR1 transzporter kölcsönhatásában

Vojnits Kinga

V. biofizikus

SZTE TTK Orvosi Fizikai és Biofizikai Intézet

témavezető: Dr. Méhn Dóra senior kutató

konzulens: Dr. Nagy László egyetemi docens

Nem kétséges, hogy az ABC transzporterek vizsgálata napjaink gyógyszerfejlesztésének egyik legfontosabb kutatási területe több szempontból is. Befolyásolják a xenobiotikumok ADME-TOX (Absorption, Distribution, Metabolism, Elimination, Toxicity = felszívódás, eloszlás, lebomlás, kiválasztás, mérgező hatás) tulajdonságait, multidrog rezisztenciát biztosíthatnak rákos sejteknek, illetőleg fontosak a gyógyszerkölcsönhatások miatt is.

A toxikológiai szempontból legfontosabb transzporterek egyike az általunk is vizsgált MDR1 glikoprotein, mely nemcsak daganatsejtekben, hanem normál szövetek epitél-endotél sejtjeiben is kifejeződik, olyan élettanilag kulcsfontosságú helyeken, mint az epecsatornában, bélbolyhokban, a vese proximális tubulusok hámsejtjeiben és a vér-agy gát endotél sejtjeiben. Ez a fehérje fokozottan védi a sejteket, szöveteket a mérgező anyagokkal szemben.

Munkánk során MDR1-et overexpresszáló K562 sejtek tesztanyagokkal mutatott kölcsönhatását vizsgáltuk *in vitro* módszerekkel. Arra voltunk kíváncsiak, hogy az azonos alapvázalattal rendelkező molekulák különböző funkciós csoportjainak megváltoztatása mennyiben befolyásolja a multidrog transzporterre gyakorolt hatásukat.

Méréseink szerint a vizsgált anyagok mindegyike többé-kevésbé hatékony gátlószerek bizonyult a Calcein esszében, és ez a hatás függött a funkciós csoportjaik mibenlététől is. Megfigyelhettük, hogy a vegyületek jelentős része már kis koncentrációban is gátolta a calcein AM kifelé irányuló transzportját, azaz vagy gátlószere, vagy szubsztrátja az MDR1 transzporternek. Ezen eredményeinket az ATPáz esszével kapott adatok megerősítik és finomítják; információt kaptunk arról, hogy mely vegyületek szubsztrátjai az MDR1 transzporternek. Az élő sejtek és membránpreparátum alkalmazásán alapuló *in vitro* esszéinkből származó eredmények összecsengenek és kiegészítik egymást.

Egyedi DNS- és kromatinszál nanomechanikai manipulálása lézercsipessel

Zieber Károly

IV. biológus

PTE TTK

témavezető: Ifj. dr. Kellermayer Miklós egyetemi docens

konzulens: Dr. Hoffmann Gyula egyetemi docens

Az eukarióta sejt legnagyobb számban előforduló fehérjei a bázikus kémhatású hisztonok, melyek specifikusan kapcsolódnak a DNS-hez. A DNS-hiszton komplex egy bonyolult térbeli alakzatot, a kromatint hozza létre. Munkám célja λ -fág DNS és tisztított hiszton fehérjék felhasználásával kromatinszál rekonstruálása, majd szerkezeti és mechanikai tulajdonságainak erőmérő lézercsipessel történő vizsgálata volt.

A hiszton fehérjéket borjú timszából izoláltuk. A kromatin összeállításához szükséges λ -fág DNS végeit Klenow-fragmentummal és biotinált dCTP-t tartalmazó nukleotid-koktéllal biotináltuk.

A kromatin rekonstruálására egyedi λ -fág DNS molekulákat ragadtunk meg lézercsipesz berendezésünkben, majd ehhez közvetlenül adtuk hozzá a tisztított hiszton fehérjéket. A kromatinszál így *in situ*, a mérőműszerben rekonstruálódott natív fehérjekomponensekből.

Rekonstruált kromatinszálakat ismétlődő nyújtási-visszaengedési ciklusokban mechanikailag manipuláltunk. A kromatinszál biotinált végeit egy-egy sztreptavidinnel bevont polistirol mikrogöngy felületére kapcsoltuk. Az egyik mikrogöngyöt a lézercsipessel, a másikat mozgatható mikropipettával fogtuk meg. A mikropipetta lézercsipeszhez képest történő elmozdításával nyújtottuk a kromatinszálakat. A nyújtás hatására erő ébredt a kromatinszálban, mely hosszabbodáshoz és erővezérelt szerkezeti változásokhoz vezetett. Méréseinkben összehasonlítottuk a csupasz DNS molekula mechanikai erőgörbéjét a rekonstruált kromatinéval. A csupasz DNS erőválaszára nemlineáris rugalmasság, illetve 60 pN erőnél fellépő kooperatív erőátmenet volt jellemző. Ezzel szemben a kromatinszál erőválaszában 10-40 pN között erőátmenetek voltak megfigyelhetők, amelyek gyakran diszkrét, ~50 nm nagyságú lépésekben növelték a filamentum hosszát. A diszkrét hossznövekedés egy-egy nukleoszóma erővezérelt disszociációja miatt felszabaduló 146 bp hosszúságú DNS szakasszal magyarázható. A megnyújtott kromatinszállra erőhiszterézis volt jellemző: a mechanikai visszaengedés közben a kromatin rekonstrukciója gátolt maradt. A kromatinszál csak hisztonfehérjék jelenlétében és kontrahált állapotban történő több perces inkubálás után rekonstruálódott.

BIOTECHNOLÓGIA TAGOZAT

Szennyvíziszapból történő biogáz fermentáció intenzifikálása

Ács Norbert

V. biológus

SZTE TTK Biotechnológiai Tanszék

témavezető: Dr. Kovács L. Kornél egyetemi tanár

Napjaink problémája a fosszilis tüzelőanyagok készleteinek megfogyatkozása. Az alternatív energiaforrások felé kell fordítani a figyelmünket. Egy ilyen lehetőség a biogáz. Többféle módon állíthatunk elő energiát biogázból, a leghatékonyabb, ha gázmotorban égetjük el. Ekkor hő-, illetve elektromos energiát is kapunk.

A biogáz alapvetően metánból és széndioxidból áll, előállításához speciális baktérium konzorcium szükséges. Ezen baktériumokat három csoportba sorolhatjuk. Az első csoportba az ún. hidrolizáló mikrobák tartoznak, ezek a makromolekulák enzimatis lebontása révén hozzáférhetővé teszik a tápanyagokat a második lépcsőfokon álló acetogén törzseknek. Ezt felhasználva, az acetogének illékony zsírsavakat és hidrogéngázt produkálnak a metanogéneknek, melyek végül a metánt, és a széndioxidot állítják elő.

Előzetes kísérleti eredményeink azt mutatták, hogy a biogáz fermentáció egyik jelentős sebesség meghatározó lépése a rendszerben jelenlévő hidrogén mennyisége. A metanogén mikrobák számára szükséges acetát a mérések alapján elegendő mennyiségben, míg hidrogén csak nyomokban van jelen. Ezen adatokat alapul véve célunk volt hidrogént juttatni a rendszerbe a metanogén mikrobák számára.

Munkám során a szennyvíziszapból történő biogáz fermentációt vizsgáltam. A rendszerbe jó hidrogén termelő baktérium törzset juttattam, mely képes volt az ott kialakult mikroba közösségbe beilleszkedni, ott szaporodni. A fermentációk során detektált gázhozamok alapján kijelenthetjük, az általuk termelt hidrogént a metanogén mikrobák képesek voltak hasznosítani. Fokozott biogáz képződést detektáltam mind batch, mind folyamatos rendszerű fermentáció esetében, mezofil és termofil hőmérsékleten.

Az anaerob fermentáció másik jelentős sebesség meghatározó lépése a biomassza lebomlási sebessége. A makromolekulák degradációjának elősegítése is ígéretes módszer a sebességfokozására. A szennyvíziszap celluláz enzimmel történő előkezelését vizsgáltam, meghatároztam, hogy a különböző típusú és koncentrációjú enzimatis előkezeléseknek milyen hatása van a gázképződésre. Megállapítottam, hogy az előkezelés pozitív hatással van az anaerob fermentáció hatékonyságára, mely igazolható volt mind tisztított enzimmel, mind cellulolitikus aktivitással rendelkező baktérium törzs használata esetében is.

BIOTECH-2

β -galaktozidáz enzimek izolálása és felhasználásuk tejipari melléktermék kezelésére

Finta Ágnes

IV. biológus

SZTE TTK Biotechnológia Tanszék

témavezetők: Szvetnik Attila tudományos munkatárs

Dr. Kiss István osztályvezető

konzulens: Dr. Rákhelyné dr. Perei Katalin tudományos munkatárs,

A mezőgazdasági és élelmiszeripari termelés során sok káros, környezetszennyező melléktermék keletkezik. Laborunkban a tejipari melléktermékek kezelésére és belőlük hasznos termékek előállítására keresünk megoldásokat. A laktóz tartalom átalakítására alkalmazhatók a β -galaktozidáz enzimek. A β -galaktozidáznak kétfajta aktivitását ismerjük, az egyik a laktóz hasítása glükózra és galaktózra. A hidrolitikus aktivitáson kívül nagy laktóz koncentráció esetén képes oligomerizáció katalizálására is (transzgalaktoziláció). Ekkor a reakció végtermékeként a monoszacharidok mellett, oligoszacharidok (tri-, tetra-, pentaszacharidok, stb.) is keletkeznek. A keletkező galaktooligoszacharidok prebiotikumként viselkednek, az emberi szervezetben elősegítik a bélben élő *Bifidobacterium*ok és *Lactobacillus*ok szaporodását, amelyek számos jótékony hatással bírnak. Munkánk célja iparilag alkalmazható β -galaktozidázok izolálása, amelyekkel például oligoszacharidokat, mint hasznos termékeket lehet előállítani tejipari melléktermékekből.

Az Intézet törzsgyűjteményéből előzetesen 48 db laktózt hasznosítani képes baktérium törzset válogattunk ki. Ezek közül aktivitásuk alapján két törzset használtunk a további kísérletekhez. 16 S rDNS alapú törzsmeghatározást követően a két baktérium (*Bacillus subtilis* és *Lactobacillus plantarum*) β -galaktozidáz génjét *E. coli*-ba klónoztuk, és a kódolt fehérjét túltermeltettük. Vizsgáltuk a termelő fehérjék hőstabilitását és megállapítottuk, hogy a *Bacillus subtilis* által termelt enzim jóval felülmúlta a *Lactobacillus plantarum*-ból származó fehérje stabilitását. Az enzimek transzgalaktozilációs aktivitását HPLC-vel és vékonyréteg kromatográfiával követtük nyomon. Mindkét enzimünk képes volt triszacharid előállítására, ugyanakkor hosszabb oligoszacharidok szintézisét nem tapasztaltuk.

Az ipari szempontoknak gyakran nem felelnek meg a természetben előforduló enzimek, viszont mesterséges evolúcióval lehetséges a fehérjék aktivitásának módosítása, javítása. Munkánk második felében ezt kísérjük meg a *Bacillus subtilis*-ből izolált β -galaktozidázzal, génjének random mutagenézisével előnyösebb tulajdonságú enzimet próbálunk létrehozni.

***Agrobacterium vitis* rezisztencia kialakítása az *iaaM* szekvencia segítségével**

Galambos Anikó

V. biológus

PTE TTK Genetikai és Molekuláris Biológiai Tanszék

témavezető: Dr. Putnoky Péter egyetemi tanár

A különböző *Agrobacterium* fajok a kétszikű növényeket a sebzési helyeken fertőzik, és tumorfejlődést illetve hajszálgökeresedést okoznak. A kóros folyamatért a növényi genomba beépülő agrobaktérium DNS-szakaszon (T-DNS) levő több gén is felelős. Az *iaaM* és az *iaaH* által kódolt enzimek (triptofán-monooxigenáz, indol-3-acetamid hidroláz) a triptofánt auxinná (indol-3-ecetsav) alakítják. Egy harmadik gén az *ipt*, ami az AMP-izopentenil transzferázt kódolja. Ez a citokinin (izopentenil-AMP) bioszintézisét végzi. Az *ipt* és *iaaM* (vagy *iaaH*) gének inaktivációja megszünteti a tumorképződést. Az agrobaktérium rezisztencia kialakításának egyik módja lehet, hogy olyan növényt állítunk elő, amelyben a patogén baktérium által bejuttatott gének megnyilvánulása gátolt. Erre napjainkban az egyik alkalmas eszköz a géncsendesítés, amelyet már eredményesen alkalmaztak a gyökérgolyvásodással szemben ellenálló, rezisztens növények létrehozására.

Célul tűztük ki olyan transzgenikus szőlő növények létrehozását, amelyek rezisztensek több *Agrobacterium* fajjal szemben is. Munkánk kezdetekor rendelkezésünkre állt egy géncsendesítésre alkalmas konstrukció, amelyet sikeresen használtak az *A. tumefaciens* c58 törzs *iaaM* és *ipt* génjeinek inaktiválásához dohány és kalanchoe növényeknél. E vektor alkalmazása azonban csak az *A. tumefaciens* c58 törzsszel szembeni fertőzésnél bizonyult hatásosnak. Más *Agrobacterium* törzsek esetében az adott gének poszttranszkripcióos inaktiválása elmaradt. Ennek magyarázata az, hogy a különböző agrobaktériumokban nagyon eltérő az *iaaM* gének DNS-szekvenciája, így az azokról képződő mRNS molekulákat az inaktíváló rendszer már nem ismeri fel.

Szőlő esetében az egyik fontos kórokozó az *A. vitis* S4 törzs, amelynek *iaaM* szekvenciája nagyfokban eltér az *A. tumefaciens* c58 törzsétől. Munkánk kezdetén izoláltuk az *A. vitis* S4 törzs *iaaM* génjének egy részletét PCR technika segítségével, majd számos klónozási lépésen keresztül hozzákapcsoltuk azt az *A. tumefaciens* *iaaM* génből származó szakaszhoz. Az így létrehozott T-DNS konstrukciót egy megfelelő („disarmed”) *A. tumefaciens* törzsbe juttatva megkezdtük a fertőzéses kísérleteket kalanchoe növényeken. Ha ebben a biológiai tesztben a géncsendesítés a várakozásoknak megfelelően megtörténik, akkor érdemes az elkészített vektort transzgenikus szőlő növények létrehozására is alkalmazni.

BIOTECH-4

Cellulóz bontó mikroorganizmusok alkalmazása bioremediációs célokra

Iglói Zsófia

V. biológus

SZTE TTK Biotechnológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Rákhelyné dr. Perei Katalin egyetemi adjunktus

Dr. Kovács L. Kornél egyetemi tanár

Glükóz monomerekből felépülő polimer, a cellulóz az egyik leggyakoribb szerves anyag a földön. Megtalálható pl. növényekben, baktérium sejtfalban egyaránt. Aerob és anaerob körülmények között is bontható mikrobiálisan. Az ismert fajok többsége anaerob módon bontja a cellulózt. Számos olyan technológiával találkozunk a remediációs eljárásokban, ahol a szalmát az olajszenyyezett talajok levegőztetésének, lazításának elősegítésére használják. A szalma alapanyaga a lignocellulóz, mely ligninből, hemicellulózból és cellulózból álló komplex szerkezet, összetettsége, felépítése a lebontását megnehezíti.

Kísérleteinkben a szalma a levegőztetés mellett, mint immobilizáló anyag, és mint szénforrás is szolgált. Az aerob baktériumok az olaj elbontását oxigént igénylő oxigenáz enzimek segítségével végzik, ezért fontos a megfelelő levegőztetés. A szénhidrogén bontó baktériumok felületaktív anyagokat termelnek annak érdekében, hogy könnyebben hozzáférjenek az olaj derivátumokhoz. Ezek közül néhány szénhidrát komponenst is tartalmaz, melyek szintézisének gyorsításához járulhat hozzá a szalmából cellulóz bontók segítségével felszabadított glükóz.

Munkám során több talajból izolált aerob, mezofil cellulóz bontó baktériummal dolgoztam (*Bacillus megaterium* KT1, *Bacillus megaterium* K1, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Paenibacillus* sp., *Arthrobacter* sp., *Dyadobacter fermentas*). A szénhidrogének elbontására laboratóriumunk-ban előzetesen izolált *Rhodococcus erythropolis* MK1 törzset használtam. Az ismeretlen fajokat a 16S rRNS gén szekvenciájuk alapján határoztam meg.

Céljaink között szerepelt a legjobb cellulózbontó törzsek kiválasztása, a cellulóz degradációjára képes enzimek izolálása, meghatározása. Ezért különböző méréseket végeztem többféle cellulóz tartalmú szénforráson. A mérések alapján kiválasztott legjobban bontó 4 törzs (*Bacillus megaterium* KT1, *Bacillus megaterium* K1, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Paenibacillus* sp.) fehérjemintázatát, enzimmészletét, illetve gyakorlati alkalmazásuk során a szénhidrogén bontás során a rendszer biokémiai oxigénigényét vizsgáltam a további kísérletekben.

BIOTECH-5

Két hazai MDMV (kukorica csíkos mozaik vírus) izolátum köpenyfehérje részleges nukleotid sorrendjének összehasonlítása

Király Erika

SzIE MKK Mikrobiológia Tanszék

V. mikrobiális biotechnológia

témavezetők: Dr. Balázs Ervin egyetemi tanár

Dr. Divéki Zoltán

A kukorica csíkos mozaik vírus (Maize dwarf mosaic virus, MDMV) a kukoricanövény egyik legjelentősebb víruskárttevője. A vírusfertőzésre a különböző kukoricafajták eltérő érzékenységet mutatnak, de általánosan megfigyelhető mozaik tünetek kialakulása, törpülés, gyengén fejlett cimer és rosszul kötött termés. A fertőzöttség mértéke fajtánként akár 80% is lehet, (Tóbiás és mtsai, 2003) az MDMV kártétele gazdasági szempontból felbecsülhetetlen.

Természetes körülmények között a potyvírusok genetikai állománya rendkívül változékony. Ezen plasztikusság bizonyos esetekben lehetővé teszi az MDMV-vel szemben ellenálló kukoricafajták rezisztenciájának áttörését. Korábbi kutatások bebizonyították, (Tóbiás és Palkovics, 2004; Tóbiás és mtsai, 2003) hogy a megoldás lehetősége a vírus köpenyfehérjének nukleotid sorrendjében való változásokban keresendő.

Célul tűztük ki vírus törzsgyűjtemény létrehozását, a vírusok köpenyfehérje nukleotidsorrendjének meghatározását. Ezáltal megállapítható, hogy milyen gyakorisággal fordulnak elő a vizsgált populációban a genetikai állomány átrendeződését eredményező rekombinációk.

Két hazai izolátumból (MVMO 17, Szgd 12) a vírus RNS-t kivontuk, a klónozáshoz szükséges reverz transzkripciót oligo dT nukleotid primerrel indítottuk, a cDNS első szál szintézise után a köpenyfehérje régiót polimeráz láncreakcióval amplifikáltuk, a keletkezett terméket plazmid klónozó vektorba építettük. Az egyes vírusklónok CP génjeinek nukleotidsorrendjét automatizált fluoreszcens stopnukleotid módszerrel megállapítottuk. A két minta szekvenciájának összehasonlítása részleges információkat hordoz, teljes körű vizsgálathoz további minták elemzése szükséges.

BIOTECH-6

Növényi biomassza, mint alternatív energiaforrás

Kiss Gabriella

V. biológus

SZTE TTK Biotechnológiai Tanszék

témavezető: Dr. Kiss István osztályvezető

konzulens: Dr. Rákhelyné dr. Perei Katalin egyetemi adjunktus

A biogáz előállítása több szempontból is különleges helyet foglal el a megújuló energetikai technológiák között Magyarországon, mivel földrajzi és éghajlati viszonyaink lehetővé teszik nagy mennyiségű biomassza előállítását, valamint mezőgazdasági és élelmiszeripari tevékenységünknek köszönhetően jelentős mennyiségű szerves melléktermék is képződik.

Az itt bemutatandó diákköri munka célja elsősorban a növényi biomassza (selyemkóró, cukorrépa, dohány) alapú biogáz termelés újszerű megoldása, különös tekintettel a különböző típusú növényi anyagok összehasonlító analízisére, illetve reaktor technikai megoldásokra.

Fejlesztéseink irányát elsősorban az a tény jelölte ki, hogy a biogáz termelésért felelős mikrokozmosz roppant összetett, melyben egymástól eltérő környezeti optimummal jellemezhető mikroorganizmusok tevékenykedik. Ezért munkahipotézisünk az volt, hogy a kifejlesztendő eljárást a mikroorganizmusok eltérő fizikai, és kémiai igényei miatt két szakaszra tervezzük. Az első szakaszban anaerob és fakultatív anaerob mikrobák a növényi biomasszát szerves savak keverékévé bontják, amit a második szakaszban a termofil anaerob metanogén baktériumok biogázzá alakítanak. A két szakasz közötti kapcsolatot recirkulációs rendszerű folyadékfázis átáramoltatással oldjuk meg. Az áramoltatás miatt a biogáz kitermelés hatásfoka csökkenhet, sok metanogén baktérium kerülhet a komposztálásra szánt inaktív anaerob biomassza-maradékba. Ezt kiküszöbölendő a második szakaszban lévő mikroorganizmusokat immobilizáljuk.

Munkahipotézisünket laboratóriumi és nagylaboratóriumi méretű reaktor elrendezésekben igazoltuk, így olyan, a gyakorlat számára is alkalmas mérési eredményeket kaptunk, melyek figyelembe vétele segíthet a biogáz technológiák elterjedésében.

A projekt az EU társfinanszírozásával, az Európa Terv keretében valósul meg

Fusarium verticillioides „white collar” génjeinek jellemzése

Kutsch Edit

SzIE MKK Mikrobiológia Tanszék

V. mikrobiális biotechnológia

témavezetők: Dr. Ládai Miklós MTA NKI,

Szabóné Stubnya Veronika Csilla, Ph.D.

A fény egy nagyon fontos környezeti jel, számos fiziológiai folyamatot szabályoz a fonalas gombákban. A *Neurospora crassa*-ban a fény által indukált változások legfőbb közvetítői az úgynevezett „white collar” (WC) 1-es és 2-es fotoreceptor fehérjék komplexei. A WC fehérjék a fény érzékelése mellett közvetlenül olyan gének átíródását is szabályozzák, melyeknek szerepe van többek között a „belső óra” kialakításában, a konidiogenezisben, illetve az ivaros képletek megjelenésében.

Vizsgálataink során izoláltuk és meghatároztuk a *Fusarium verticillioides* WC1 és WC2 génjeinek szekvenciáját. A WC1 gén 3125 bp-os szekvenciája 2 db exont tartalmazott, melyek egy 1023 aminosav hosszúságú fehérjét kódolnak. A származtatott fehérje a *N. crassa* WC1-es génjéhez hasonlóan 4 funkcionális domént tartalmazott, három PAS domént és egy GATA típusú cinkujj motívumot. A PAS domén felelős a FAD kromofór megkötéséért és a heterodimerizációért, a GATA típusú cinkujj motívum pedig több transzkripciós faktor promoterkötő szekvenciája. Az N-terminális részhez legközelebb eső PAS doménben, amely a *N. crassa*-ban a FAD megkötéséért felelős, azonosítottuk a flavinkötésért felelős aminosavakat és a fotoszenzitív cisztein aminosavat is. A WC2 gén 1755 bp-os szekvenciája 3 db exont tartalmazott, melyek egy 544 aminosav hosszúságú fehérjét kódolnak. A származtatott fehérje a *N. crassa* WC2-es génjéhez hasonlóan egyetlen PAS domént tartalmaztak.

Kimutattuk, hogy a WC1 és a WC2 is egyetlen kópiában van jelen a genomban, majd kiűtő konstrukciót terveztünk és készítettünk a higromicin transzferáz markergén alkalmazásával.

A továbbiakban null mutánsok létrehozását és azok fenotípusos vizsgálatát tervezzük különös tekintettel a konidiogenezisben és szexuális szaporodásban bekövetkező változásokra.

BIOTECH-8

Klórozott aromás vegyületekkel szennyezett talajok biológiai tisztítása

Nagy Árpád

V. biológus

SZTE TTK Biotechnológiai Tanszék

témavezetők: Dr. R. Perei Katalin egyetemi adjunktus

Dr. Kovács L. Kornél egyetemi tanár

A Budapesti Vegyiművek a nyolcvanas években a Baranya megyei 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 kármentesítés első lépése a szennyezett talaj elszállítása és elégetése volt, azonban a nagy területen szétterjedt klórozott vegyületek mennyiségét ezzel még nem sikerült határérték alá csökkenteni a talajban. Ráadásul a további égetés sem volt gazdaságos, ezért más, olcsó és hatékony módszert kellett alkalmazni a teljes rehabilitációhoz.

Kutatásunk célja ezen szennyezett talajmintákban megtalálható aromás vegyületek, így többféle klórozott benzolszármazék bontása-, illetve átalakítása a környezetre kevésbé toxikus intermedierré.

Az fizikai-kémiai módszerekkel előkezelt, szennyezett talaj tisztítását biológiai úton valósítottuk meg, aromás vegyületek bontására szelektált mikroorganizmusok segítségével (*Pseudomonas putida*, *P. marginalis*, *P. pseudoalcaligenes*, *P. stutzeri*, *Rhodococcus erythropolis*, *Bacillus fusiformis*). A kísérletben résztvevő Gram pozitív baktériumok felületaktív anyagokat termelnek, amelyek a vízben nehezen oldódó klórbenzolok hozzáférhetőségét segítik elő a dehalogénáz, oxigenáz enzimeket szintetizáló Gram negatív baktériumok számára.

A szennyezett talajminták legnagyobb mennyiségben tetra- és pentaklórbenzolt tartalmaztak, ezért az adaptációs kísérletekben, majd a bontási folyamatok modellezésében ezeket a vegyületeket használtuk (hexán oldószerben oldva).

A tetra- és pentaklórbenzol vegyületek lebontásakor klorid ionok szabadulnak fel, a tápoldat klorid tartalmának változását argentometriás módszerrel nyomon követhető, a szubsztrátok mennyiségének változását pedig gázkromatográffal összekötött tömegspektrométer (GC-MS) segítségével detektáltuk. A mikroorganizmusok fehérjemintázatát vizsgálva kerestük a klórozott vegyületek hatására indukálódó fehérjéket/enzimeket, amelyek képesek lehetnek a klórozott aromások bontására.

A *Methylococcus capsulatus* (Bath) proteomikai analízise

Orosz Gyula

IV. biológus (2007)

SZTE TTK Biotechnológiai Tanszék

témavezető: Dr. Kovács L. Kornél egyetemi tanár

A *Methylococcus capsulatus* (Bath) gram-negatív metanotróf baktérium kétféle metán-monooxigenáz (MMO) enzim expressziójára képes: rézmentes körülmények között a szolubilis metán-monooxigenáz (sMMO) illetve annak kisegítő fehérjei termelődnek, rézionok jelenléte mellett pedig a partikuláris metán-monooxigenáz (pMMO) és kisegítő fehérjei illetve a réztranszportért felelős fehérjék. Az utóbbi esetben a baktérium morfológiája is megváltozik: kiterjedt belső membránrendszere alakul ki. A réz jelenlétét egy bakteriális kétkomponensű rendszer érzékeli, és ez az információ foszforilációs jelátviteli útvonalon keresztül szabályozza bizonyos gének kifejeződését. A sMMO számos környezeti szennyezőanyag lebontására képes (alkánok, alkének, halogénezett alkánok, aromás vegyületek és heterociklusos szénhidrogének), sajnos még nem sikerült más baktériumban, működőképes formában előállítani, ennek eléréséhez fontos volna a gén transzkripciójának és a fehérje érésének minél pontosabb ismerete.

A rézszabályozás feltérképezéséhez a baktérium foszfoproteomjának vizsgálatát tűztem ki célul. A *M. capsulatus* sejteket kétféle folyadékkultúrában növesztettem fel: rézmentes és rézet tartalmazó tápoldatban. A feltart sejtekből származó fehérjék közül foszforilált fehérjéket tisztítottam, majd a feldúsított foszforilált fehérjéket párhuzamosan kétdimenziós poliakrilamid géleken futtattam meg. Azokat a fehérjéket, amelyek különbséget mutattak a két eltérő mintát tartalmazó gélen (tehát foszforilációs állapotuk réz hatására megváltozott) tömegspektrometriai módszerekkel analizáltam, a fehérjemintákat triptikus emésztés után MALDI TOF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization) analízissel határoztam meg.

BIOTECH-10

Ultrahangos kezelés hatása a szennyvíziszap mikroorganizmusaira

Orosz Zsuzsanna

V. biológia-környezettan

PTE TTK Talajtani és Klimatológiai Tanszék

témavezetők: Czakóné dr. Vér Klára egyetemi docens

Ambrusits Balázs osztályvezető

A Pécsi Vízmű ZRt. Pellérdi Szennyvíztisztító telepén biológiai eleven iszapos szennyvíztisztítás korszerűsítése érdekében egy új technológia, az ultrahangos iszapkezelés üzemi kísérletére került sor. A fölösiszap ultrahangos kezelése a keletkező iszap mennyiségének csökkenésével jár együtt, és ezzel az üzemvitel is gazdaságosabbá válik. Az ultrahanggal történő iszapkezelés során a szennyvíziszapot 21 kHz frekvenciájú, speciális rezonátorokkal ellátott reaktoron vezetik keresztül, ahol a mikroorganizmusok és egyéb egysejtűek sejtfala elroncsolódik, az intracelluláris enzimek feltáródnak, könnyebben lebonthatóvá válik az iszap.

Az üzemellenőrzés során az ultrahangos kezelés eredményességének tesztelésére megfelelő módszert kellett keresni.

A kezelés következményeire az ultrahangos kezelés előtt és után vett mintákból végzett mikroszkópos megfigyelésekkel és tenyésztéses módszerrel meghatározható összesírászámból következtettünk. A heterotróf baktérium mennyiségét tenyésztéses vizsgálattal nutrient agaron, a mikroszkópikus gombákét Rose-Bengale agaron határoztuk meg.

Megállapítottuk, hogy:

- A mikroszkópos vizsgálatokból megállapítható, hogy az ultrahangos kezelés hatására a flokkulumok mérete csökkent, és a fonalas struktúrák felaprózódása következett be.
- A technológiába beépített, a fölösiszap kezelésére alkalmazott ultrahangos készülék előtt vett mintákban a nutrient agaron kitenyésztethető baktériumok száma $1,0 \times 10^9$ /ml iszap, a kezelés hatására szignifikánsan nem változott.
- A mikroszkópikus gombák mennyisége a külső hőmérséklettől függően ingadozott az iszapmintákban, a kezelést követően szignifikánsan nem változott.
- Az iszapminta 10000 rpm mellett 15 percig végzett centrifugálása után sem felülúszóban, sem az üledékben a kimutatható heterotróf mikroorganizmusok mennyisége szignifikánsan nem változott a kezelés hatására.

Vizsgálatainkat tovább folytatjuk az iszap mennyiségének és ülepszépségének vizsgálatával, újabb módszerek kipróbálásával.

A *Neurospora crassa* koprogén termelésének optimalizálása

Tóth Viktória

IV. biológus

DE TTK Mikrobiális Biotechnológiai és Sejtbiológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Pócsi István egyetemi docens

Dr. Emri Tamás egyetemi adjunktus

A sziderofórok olyan gombák (és baktériumok) által termelt, változatos szerkezetű, kis molekulatömegű molekulák, melyek Fe^{3+} -mal alkotott komplexei rendkívül stabilak. A sziderofóroknak sokféle fiziológiai funkciója van. Gombák esetében az extracelluláris sziderofórok a Fe^{3+} komplexbe zárásával részt vesznek a vas szollubilizációjában, transzportjában és csökkenthetik a konkurens fajok számára elérhető vas mennyiségét. Az intracelluláris sziderofórok közreműködnek a vas transzportjában, valamint a vas raktározásában és ezáltal a szabad vas okozta oxidatív stressz megelőzésében is.

Egyes sziderofórokat, illetve származékaikat felhasználják a gyógyászatban, többek között a haemochromatosis, β -thalassaemia, ismételt vértranszfúziót követő krónikus vastúlterhelés, illetve akut alumínium mérgezés kezelésére. A fentiekén túl a gomba eredetű sziderofórokról és köztük a koprogénról igazolták, hogy nagymértékben gátolják az érelmeszesedéshez vezető biokémiai folyamatokat *in vitro*.

Tanszékünkön több éve folynak a koprogén gyakorlati célú felhasználásának lehetőségeit tanulmányozó alap és alkalmazott kutatások. Mínt hogy a koprogén kereskedelmi forgalomban igen drága (1 mg koprogén kb. 100.000 Ft-ba kerül), ezért célul tűztük ki egy olyan eljárás kidolgozását, amely segítségével egyszerűen és nagy mennyiségben tudunk koprogént előállítani a *Neurospora crassa* fonalas gomba segítségével. Vizsgálatainkhoz szénforrásként glükózt, nitrogénforrásként aszparaginsavat tartalmazó szintetikus tápközeget használtuk. Ebben a tápközegetben a gomba 80-100 mg/l koprogént, 30-50 mg/l dimerumsavat és kevesebb, mint 15 mg/l egyéb sziderofórt, zömében neokoprogén I-et termelt. A pH és az aszparaginsav koncentráció RSM (response surface methodology) módszerrel történt optimalizálásával, illetve a glükóz koncentráció és a tenyésztési idő alkalmas megválasztásával sikerült megdupláznunk a koprogén kihozatait (190-210 mg/l). Ráadásul ilyen körülmények között a szennyező sziderofórok mennyisége (< 10 mg/l) is jelentősen csökkent. Kísérleteinkkel demonstráltuk, hogy az eredményes koprogén termelés feltétele a gomba intenzív növekedésének és ezen keresztül a szennyeződésként mindig jelenlévő Fe^{3+} gyors eltávolításának, valamint a sziderofór termeléshez ideális pH és aminosav koncentráció biztosítása. A fentiekén túl kimutattuk, hogy a már nem növekvő, spórázó tenyészetek is termelnek koprogént, ami hosszú – akár 1 hetes – fermentációs ciklusokat tesz lehetővé.

ETOLÓGIA TAGOZAT

Trauma hatása az agresszivitásra és a társuló prefrontális kérgi aktivációra

Ashaber Mária

V. biológus

MTA KOKI Magatartás-Neurobiológiai Osztály

témavezető: Dr Haller József tudományos főmunkatárs

konzulens: Dr Bárdos György egyetemi docens

A prefrontális kéreg – humán adatok szerint – jelentős szerepet játszik az agresszió idegi szabályozásában, de a háttérben álló neuronális mechanizmusok kevésbé ismertek. Korábbi eredményeink szerint a prefrontális kérgi területek aktiválódnak pszichoszociális kontaktus során, melyek közül négy aktivitását tovább emelte az agresszív kontaktus. Antiszociális személyiségzavarban megjelenő violens, hypoarousal vezérelt és a természetes agresszió között aktivációs különbség mutatkozott a prefrontális kéregben, a dorzális rapheban és a centrális amygdalában. Ezekben a vizsgálatokban szerzett tapasztalatokat egy változó arousal állapotokkal jellemezhető kórképhez, a poszttraumás stressz rendellenességhez társult agresszió tanulmányozásában kívántuk kamatoztatni.

A kórkép egy általunk kialakított modelljében, amely egyszeri traumás elektromos sokk alkalmazásán alapul, kívántuk vizsgálni az agresszív viselkedés alakulását, illetve az agresszióban releváns idegi struktúrák aktivációs mintázatát. A kísérletben használt Wistar hímek viselkedését a trauma után 28 nappal végzett rezidens-betolakodó tesztben vizsgáltuk. Mind a traumán átesett, mind a traumát nem kapott patkányoknál három-három csoportot alakítottunk ki: kontroll, pszichoszociális és agresszív kontaktus. Az idegrendszeri vizsgálataink a prefrontális kéreg és az általa modulált agyi régiók vizsgálatára irányult. A neuronális összakiváltás meghatározása a c-Fos fehérje immuncitokémiai kvantifikálásával történt.

Eredményeink azt mutatják, hogy az alkalmazott modellben a trauma csökkentette az agresszív magatartást. Mindkét fenti kontaktus jelentős aktivációt idézett elő a prefrontális kéregben és a mediális amygdalában. E kontaktusok következményeinek hasonlósága valószínűleg a hosszú izolációs periódussal magyarázható. A hypothalamikus támadási zóna aktivációja funkciójának megfelelően az agresszív kihívás során igen markánsnak mutatkozott. A centrális amygdalában a pszichoszociális kihívás során szignifikánsan nőtt, az agresszív kontaktusban tendenciaszerűen csökkent a c-Fos pozitív sejtek száma, mely a szabályozó struktúra rendellenes működésére utalhat a kórképben. Erről még az aktiválódott neuronok fenotipizálása differenciált képet nyújthat.

ETOL-2

**Kutyák (*Canis familiaris*) szívritmus-változása mint a figyelmi állapot módosulásának
indikátora egy hangvisszajátszásos kísérletben**

Faragó Tamás

biológus (2006)

ELTE TTK Etológia Tanszék

témavezetők: Maros Katalin, PhD hallgató

Dr. Miklósi Ádám egyetemi docens

Dr. Pongrácz Péter tudományos segédmunkatárs

A kognitív etológia egyik fő problémája, hogy az állatok vizsgálata során csak közvetett információkkal rendelkezhetünk az elme működéséről. Klasszikus megközelítésben a vizsgált alanyokat problémafeladatok elé állítjuk, majd viselkedésük alapján következtetéseket vonhatunk le a kognitív képességeikről. Ha vizsgálataink során, alacsonyabb szinten működő, fiziológiai változókat is mérünk, árnyaltabb képet alkothatunk az állati elmeműködésről. Ilyen változó lehet a szívritmus, ami könnyen, noninvazív módon mérhető, és változásai tükrözik a figyelmi állapot módosulását, a mentális erőfeszítést illetve az emocionális reakciókat.

Kísérletünkben a kutya vokális kommunikációjának leghangsúlyosabb elemét, az ugatást vizsgáltuk. Arra kerestünk választ, hogy a kutyák képesek-e érzékelni a különbséget különböző szituációban rögzített ugatások között. Korábbi kísérletekben kimutatták, hogy az ugatás akusztikailag strukturált, bizonyos jellemzői (pl. tonalitás, frekvencia, vakkantások közt eltelt idő) alapján jól tipizálható, sőt ezek alapján az emberek nagy biztonsággal képesek megkülönböztetni, érzelmi töltetet tulajdonítani az ugatásoknak. A kísérlet során a habituáció-diszhabituációs paradigma alapján, három egyforma szituációjú ugatást játszottunk be a kutyáknak felvételtől, majd negyedszerre egy eltérő helyzetben rögzítettet. Kontrollként mechanikus zajt, fűró és hűtőszekrényzűgást alkalmaztunk. Eközben mértük a szívritmusukat és azt találtuk, hogy az ugatás hatására megnőtt az alanyok szívritmusa, majd az ismételt bejátszások során a növekedés mértéke egyre csökkent. Az új ugatás bejátszásakor ismét magasabbra emelkedett a szívritmus. Az előbbieknél habituációs reakcióra utalnak, míg az utóbbi diszhabituációra, amiből azt a következtetést vonhatjuk le, hogy a kutyák érzékelték a különbséget az ugatások között.

Lovak reaktivitásának vizsgálata

Gavalda Kinga

V. zoológus

SZIE ÁOTK Ökológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Kabai Péter egyetemi docens

Nagy Krisztina PhD hallgató

A lovak többségét hobbi illetve sport célra tartják, de ezen kívül olyan speciális területeken is alkalmazzák őket, mint rendőr-, hippoterápiás-, vagy akár kaszkadőrlo. A különböző alkalmazásokhoz különböző vérmérsékletű, jellegű lovak felelnek meg. Az egyik legfontosabb szempont a ló reaktivitása (félőssége, ijedőssége), vagyis egy váratlan helyzetre, ingerre adott válasz erőssége. A gyakorlatban azonban megfelelő tesztek hiányában nem vizsgálják a lovak viselkedését a kiválasztás során. A lovak esetleges alkalmatlansága az adott feladatra gyakran a kiképzés során derül ki, amikor már erre sok időt és energiát áldoztak.

Célunk egy rövid idő alatt, olcsón elvégezhető, egyszerű változók alapján objektíven értékelhető, tehát gyakorlatban könnyen felhasználható teszt sorozat kidolgozása, amely megbízható adatokat szolgáltat a lovak reaktivitásáról illetve gyakorlatban való alkalmazhatóságukról.

Az általunk alkalmazott teszteket két lépcsőben ellenőriztük:

- 1) a megfigyelők közötti megegyezés, az osztályon belüli korrelációs együttható (ICC) legyen 0.8 fölött,
- 2) a megfigyelők értékelését egyszerűen mérhető változókkal (pl. latencia, néhány viselkedésem előfordulása) rekonstruálni lehessen.

Irodalmi adatok és saját tapasztalataink alapján 9 különböző tesztet végeztünk 49 lóval, 3 lovardában. A lovak reakciójáról videófelvételt készítettünk. Minden lovat a tesztek után egymástól függetlenül két bíráló pontozta.

A kilenc tesztből négy próba (hídteszt, esernyőteszt, vízspricceléstezt, elérhetetlen alma teszt) felelt meg a kritériumoknak. A tesztekre adott reakciók közötti összefüggések arra utalnak, hogy ezekből három (hídteszt, esernyőteszt, vízspricceléstezt) méri a reaktivitás valamely komponensét, míg az elérhetetlen alma tesztrel a ló frusztráció tüzéséről kaphatunk információt.

Eredményeink arra utalnak, hogy az eddig alkalmazott szubjektív intenzitás skálák helyettesíthetők objektíven mérhető egyszerű változókkal.

ETOL-4

Mennyire képesek a kutyák értelmezni az emberi mutatót?

- Új eredmények (és kérdések) egy egyedfejlődési teszt sorozat tapasztalatai alapján -

Kara Edina

V. biológia-környezettan-IV. biológus

ELTE TTK Etológia Tanszék

témavezető: Dr. Gácsi Márta

A kutya – feltételezhetően az emberi környezetben rá ható konvergens evolúciós folyamatok következtében (is) – meglepően eredményes az ember vizuális jeleinek értelmezésében. Célunk az volt, hogy egy, a kutatásokban használt tesztet alkalmazva (kétutas választási helyzetet, melyben az ember távolról, röviden rámutat a jutalmat rejtő céltárgyra), megfelelően nagy mintán elemezzük számos eddig nem vizsgált tényező hatását a teljesítményre.

Kérdéseink módszertani, egyedfejlődési, egyedi tapasztalattal kapcsolatos és evolúciós témakörbe csoportosíthatók. Különböző korú kölyköket, és eltérő képzettséggel rendelkező felnőtt kutyákat teszteltünk, azért hogy az életkor, és az egyedi élet során szerzett tapasztalatok esetleges hatását vizsgáljuk. A 20 tesztpróba során az esetleges tanulást, egyes (kölyök, felnőtt) egyedek ismételt tesztelésével pedig a teszt eredményességének stabilitását vizsgáltuk. Továbbá különböző célra tenyésztett fajtákat valamint szélsőséges test- és fejméretű fajtákat teszteltünk azért, hogy a szelektív tenyésztés esetleges hatásait vizsgáljuk.

Eredményeink szerint sem az ivar, sem a testméret nem befolyásolja a kutyák tesztben elért teljesítményét. Az eltérő életkorú egyedeket összehasonlítva, már a legfiatalabb korcsoportban is a felnőttekéhez (2 év<) hasonló eredményességet tapasztaltunk, ami veleszületett képességekre vagy igen gyors specifikus tanulóképességre utal. A „kamaszkorú” (10-12 hónapos) egyedek viszont különböztek a felnőtt egyedektől a tesztben mutatott eredményességben, amit okozhat a kamaszok egyfajta fokozott önállósága. A teszt során nem történt tanulás, az ismételt tesztelés eredménye pedig arra utalt, hogy a választási sikeresség időben viszonylag stabil. A munkára szelektált fajták közül a kooperatív feladatokra kitenyésztettek jobban teljesítettek az önálló munkára szelektáltaknál, és a vadászkutyafajták ilyen logika alapján történő összehasonlításával is hasonló eredményeket kaptunk. A rövid fejű kutyafajták jobb eredményeket értek el a hosszú fejűeknél. Az egyedi szintű részletes értékelés során beazonosítható stratégiák elemzése és az előképzettség tisztázatlan hatása további kutatásra érdemes kérdéseket vet fel.

Különböző korú kölyök és felnőtt macskák emberrel szembeni kommunikációjának összehasonlítása

Kemencei Zita

V. alkalmazott zoológus

SZIE ÁOTK Ökológia Tanszék

témavezetők: Dr. Miklósi Ádám tudományos főmunkatárs

Lakatos Gabriella PhD

konzulens: Dr. Kabai Péter docens

A kutyákhoz hasonlóan a macskák is nagymértékben alkalmazkodtak az emberrel való együttéléshez és szoros szociális kapcsolatot képesek vele kialakítani. Korábbi kísérletekből kiderült, hogy egy tárgyválasztásos tesztben a macskák a kutyákhoz hasonlóan képesek az emberi gesztikuláris kommunikációs jelzések alapján helyesen választani, de egy számukra önállóan megoldhatatlan helyzetben a macskák lényegesen kevesebb vizuális figyelemfelhívó viselkedéselemet mutatnak, mint a kutyák (Miklósi és mtsai, 2005).

Munkánk során, két kísérletben vizsgáltuk, hogy az egyedfejlődés során változnak-e a macskák emberrel szemben mutatott kommunikációs képességei.

Az első kísérlet során egy tárgyválasztásos helyzetben vizsgáltuk, hogy van-e különbség a különböző korú kölyök és felnőtt macskák teljesítménye között, ha különböző emberi gesztikuláris jelzések alapján kell választaniuk. A kitarított mutató típusok esetén a macskák viszonylag korán képesek jelként értelmezni egyszerű emberi gesztusokat. A visszavett mutató típusban az 5-7 hónapos macskák esetén nem lehetett kimutatni a véletlen szinttől eltérő teljesítményt, amit magyarázhat valamilyen életkori sajátosság, mint a „kamaszkor” miatt megjelenő viselkedésváltozás, amelynek létezését kutyáknál korábbi kísérletek igazolták (Gácsi és mtsai, 2006).

A második kísérlet során, egy a macskák számára önállóan megoldhatatlan helyzetben, vizsgáltuk, hogy az eltérő korú macskák mutatnak-e figyelem -felhívó és -irányító viselkedés elemeket. Eredményeink szerint azok az állatok, amelyek később közelítették meg a jutalmat rejtő tálkát, a kísérlet folyamán inkább a gazdájukra figyeltek, de a 2 hónapos kölykök kevesebb ideig nézték a gazdájukat, mint a felnőtt állatok. Azok az állatok, amelyek előbb értek a jutalmat rejtő tálkához a későbbiekben inkább a kísérletvezetőre figyeltek, de ebben a csoportban is megfigyelhető volt, hogy a fiatalabb állatok később néztek föl, tehát kevésbé figyeltek az emberre, mint az idősebb állatok.

Eredményeink alapján, feltételezhetjük, hogy az idősebb állatok egyedi életük során jobban megismerték, hogy az emberi kommunikatív viselkedésformáknak mely elemeit tekinthetik jelzésnek (pl.: a mutatót), illetve milyen viselkedésük váltja ki az ember megfelelő reakcióját, ezért az idősebb állatok gyakrabban használnak vizuális kommunikációs jelzéseket az ember irányában, mint fiatalabb fajtársaik.

ETOL-6

Környezeti hatások és stressz-mediált magatartásváltozások

Kéri Enikő és László Márta

IV. biológia-környezetvédelem; II. egészség-tan-gyógypedagógia

SZTE JGYPK Biológia Tanszék

konzulensek: Dr. Gálfi Márta főiskolai tanár

Dr. Kocsis Julianna egyetemi docens

Nagyéri György PhD hallgató

Ismeretes, hogy a biológiai organizmusok homeosztázisa – a fiziológiai és viselkedés elemek komplex egységeként – a változó környezethez való folyamatos alkalmazkodást biztosítja. A perzisztens szerves szennyező (POP) vegyületek mg-os dózisban való alkalmazásának ismert hatásai, hogy a neuroendokrin rendszeren keresztül modulálják a homeosztatikus elemeket.

Jelen vizsgálatainkkal célunk az volt, hogy az extrém alacsony dózisú klórbenzolok (CIB) hatásait tanulmányozzuk a stresszhormonok [vazopresszin (VP), oxytocin (OT), adrenokortikotrop hormon (ACTH)] által mediált neuroendokrin funkciók és a kapcsolt viselkedésmintázatok vonatkozásaiban.

Kísérleteinkben Wistar hím patkányokat kezeltünk gyomorszondán át; hexa- és triklórbenzol 1:1 arányú keverékével, 0,1 vagy 1 µg/testsúly kg/nap dózisban; 30, 60 és 90 napig. A kezelési protokollnak megfelelően egyrészt meghatároztuk az állatok viselkedését (szorongás, figyelem, agresszió, kíváncsiság) open-field, elevated plus maze, módosított resident-intruder tesztekkel. Másrészt a vérből stresszhormonokat (ACTH, VP, OT) mértünk RIA módszerrel, és a neurohypophysisekből (NH) monolayer tenyészeteket készítettünk, amelyeken monoamin (szerotonin, hisztamin, katekolaminok) és peptid (galanin) kezelésekkal receptor funkciókat vizsgáltunk.

Eredményeink szerint az *in vivo* CIB kezelések – dózis- és időfüggéseinek hatására – az ACTH, OT, VP szérum szintjei változtak. A CIB kezelt patkányok *in vitro* NH tenyészeinek a monoaminokhoz kapcsolt VP és OT elválasztása modulálódott. A viselkedés vizsgálatok a szorongás és agresszió szignifikáns mértékű fokozódását mutatták.

Megállapítottuk, hogy a homeosztázist determináló neuroendokrin és viselkedéselemek korreláltnak változtak az extrém alacsony dózisú CIB kezelések hatására, amely következményesen fiziológiai és kognitív eseményeket indukálhatnak.

Kutya-gyerek interakció vizsgálata terápiás helyzetekben

Nánai Katalin
biológus (2006)
ELTE TTK Etológia Tanszék
témavezető: Dr. Topál József tudományos főmunkatárs

Az elmúlt évek kutatásai egyre inkább azt igazolják, hogy az állatok bevonásával végzett fejlesztő terápia sok esetben jótékony hatással lehet a szellemileg, fizikailag vagy emocionálisan sérült emberekre. Ennek következtében kezdtek szakemberek terápiás eszközként alkalmazni speciálisan kiképzett kutyákat, ami gyakran meglepő sikereket eredményezett. Az Etológia Tanszéken végzett korábbi vizsgálatok alapján például úgy találták (ld. Buják, 2003, mscr.), hogy terápiás szituációkban a kutya felé könnyebben megnyílnak az autista gyermekek, mint az ember felé és a kutya kommunikációs aktusait bizonyos helyzetekben adekvátabb módon értelmezik, mint az ember által bemutatottakat. Azonban a kutya fejlesztő foglalkozásokba való bevonása nemcsak a kommunikációs/empatikus készségek fejlesztésének lehet alkalmas eszköze, hanem a kutya iránt tapasztalható intenzív érdeklődés megfelelő alapul szolgálhat arra is, hogy motoros és figyelmi készségeket fejlesztő feladatokban is hatékony „segédeszközként” jelenjen meg az állatterápia.

E lehetőséget vizsgálva végeztem megfigyeléseimet. A vizsgálat helyszíne a debreceni KIFONI (Kiskorú Fogyatékosok Nappali Intézménye), ahol kutya bevonásával heti rendszerességgel tartanak középsúlyosan fogyatékos gyerekek számára mozgásfejlesztő és figyelmi készségeket javító foglalkozásokat. A célcsoport tagjai 17-18 éves fiatalok (N=5; fiúk, lányok vegyesen) voltak. A gyerekek viselkedését, reakcióidejét, feladatvégrehajtási pontosságát és koncentráció képességét négy különböző szituációban vizsgáltam. Céлом annak kiderítése volt, hogy a kutya, mint motivációs, terápiás „eszköz” mennyiben képes serkenteni a fogyatékos gyerekeket az adott szituációban egy összetett feladat elvégzésére.

Az egyes feladatok végrehajtása során az utasítás szerint a gyerekeknek kifejezetten a kutyára kellett összpontosítaniuk, aki mint „facilitátor” segítségképpen előre bemutatta az elvégzendő feladatot. Ugyanezeket a gyakorlatokat a gyerekek úgy is végrehajtották, hogy egy ember (a kutya felvezetője) mutatta be (facilitálta) számukra a teendőket. A feladatok minden alkalommal rögzített sorrendben, (az egyszerűbbekkel kezdve s a bonyolultabbakkal folytatva) kerültek bemutatásra, s a gyerekeknek valamennyit meg kellett csinálniuk a kutyával és kutya nélkül is. A foglalkozásokról videofelvételeket készítettem, majd a gyerekek viselkedését előre meghatározott szempontok szerint utólagosan értékeltem ki összehasonlítva a gyerekek ember, illetve kutya által facilitált szituációban mutatott viselkedését.

ETOL-8

Hosszú tartamú alacsony-frekvenciás elektromágneses tér viselkedési hatásai patkányban

Szemerszky Renáta

V. biológus

ELTE TTK Élettani és Neurobiológiai Tanszék

témavezető: Dr. Bárdos György egyetemi docens

Az alacsony frekvenciás mesterséges elektromágneses terek (EMF) és sugárzások – melyek szintje az elmúlt 50-100 évben folyamatosan emelkedett – a nem ionizáló-sugárzások (NIEMS) közé tartoznak. Ezek nem képesek megbontani a kémiai kötések a molekulák között, s így az, hogy gyakorolnak-e bármilyen hatást az élő rendszerekre, bizonytalan. Az eddigi kutatások elsősorban a sejtelettani folyamatokra koncentráltak. Mi komplex viselkedési állatmodellekkel azt vizsgáljuk, hogy vannak-e az elektromágneses térnek nem-specifikus egészségproblémák (pl. fejfájás, émelygés, rossz közérzet) formájában, a viselkedés szintjén megjelenő, de fiziológiásan nehezen észlelhető hatásai.

Vizsgálataimat felnőtt patkányokkal, 50 Hz frekvenciájú elektromágneses teret alkalmazva végeztem – mely megfelel a városi transzformátorok által generált EMF-nek –, arra a kérdésre keresve választ, hogy a tartós kitettségnek vannak-e fennmaradó hatásai.

A motoros aktivitást rövid expozíció alatt vizsgálva az EMF-nek nem volt hatása, 60 órás expozíció után vizsgálva az aktív elemek csökkenését, a passzivitás növekedését tapasztaltuk. A motivációs állapotban nem találtunk változást. A preferencia/averzió vizsgálatok nem utalnak az EMF által kiváltott kellemetlen belső állapotváltozásra. A kezelés hatására az állatok stresszreaktivitása csökkent. A hormonvizsgálatok eredményei arra utalnak, hogy a krónikus EM expozíció nem jelent tartós stresszt az állatok számára. Összességében a hatások nem egyértelműek, helyes értelmezésükhöz a továbbiakban a háttérmechanizmusokra koncentrálni szükségesek. Eredményeink egyelőre nem igazolják az extrém alacsony-frekvenciás EMF nem-specifikus egészségproblémákat okozó hatását.

GENETIKA TAGOZAT

GENET-1

Eltérő viselkedésű cholesteatomák citogenetikai elemzése interfázisos FISH analízissel

Ecsedi Szilvia

V. molekuláris biológus

DE OEC Biomarker Analízis Tanszék

témavezetők: Dr. Balázs Margit egyetemi tanár

Rákosy Zsuzsa PhD hallgató

A középfül cholesteatomájának patológiáját kontrollálatlan növekedés és a környező hallócsontok destrukciója jellemzi. Míg korábban a betegség mindössze a csontokra gyakorolt nyomásának tulajdonítottak jelentőséget, ma a csontdestrukciót enzimatikus folyamatok eredményének tartják, melynek hátterében álló genetikai eltérésekről kevés adat áll rendelkezésre. Célunk az eltérő viselkedést mutató nem destruktív, illetve a csont destruáló tulajdonsággal rendelkező elváltozások közötti citogenetikai eltérések megállapítása, az egyes minták kromoszomális heterogenitásának tanulmányozása, továbbá a kromoszomális eltérések és a sejtek proliferációs indexe közötti kapcsolat elemzése.

Vizsgálataink során 16 cholesteatoma kromoszomális eltéréseit analizáltuk fluoreszcencia *in situ* hibridizációval (FISH). Interfázisos FISH analízissel tanulmányoztuk a 3-as (n=13), 7-es (n=16), 8-as (n=16) és 17-es (n=16) kromoszómák számbeli eltérését. Vizsgálatainkhoz plazmidból izolált, centroméra specifikus DNS-szondákat alkalmaztunk, melyeket nick transláció segítségével biotinnal vagy digoxigeninnel konjugált dUTP-vel jelöltünk. A sejtek proliferációs indexének meghatározása fluoreszcein-izotiocianáttal konjugált Ki-67-es monoklonális antitest segítségével történt a minták orientációjának meghatározását követően, melyet hematoxin-eozin festéssel végeztünk.

Eredményeink szerint a csontokat roncsoló mintáknál a poliszómia a 7-es és 8-as kromoszómára közel azonos százalékban fordult elő. A nem destruktív mintáknál a 8-as kromoszóma eltérését gyakrabban figyeltük meg. Az irodalomban eddig nem vizsgált 17-es kromoszóma poliszómiája kevésbé volt jellemző, azonban a monoszómiás sejtek aránya a hallócsontot roncsoló mintákban eléri a 20%-ot. A 3-as kromoszóma eltérését mindössze 2 errodáló mintánál tapasztaltuk, amely a 7-es, 8-as és 17-es kromoszómák alterációjával társult; a kevésbé agresszív viselkedésű cholesteatomáknál nem fordult elő. A kimutatott genetikai eltérések korrelálnak a minták sejtproliferációs indexével: az aneuszómiás sejtek megnövekedett aránya sejtproliferációs hajlammal társul. Elképzelhető, hogy ezen kromoszómák számbeli eltérése, továbbá a sejtek megnövekedett proliferációs aktivitása befolyásolja a cholesteatomák biológiai viselkedését.

GENET-2

Az autofág gének inaktiválása megrövidíti az élethosszt *Caenorhabditis elegans*ban

Erdélyi Péter

V. biológus

ELTE TTK Genetikai tanszék

témavezető: Dr. Vellai Tibor egyetemi docens

Öregedési folyamatunk genetikai szabályozásának megértése biológiai megismerésünk egyik alapvető, izgalmas kérdése. Ez idáig három genetikai útvonal szerepét tárták fel az állatok élethosszában szabályozásában. Ezek a szénhidrát anyagcserében kiemelkedő jelentőségű inzulin/IGF-1 (Insulin-like Growth Factor-1) jelátviteli rendszer, a sejt energia állapotát érzékelő TOR („Target Of Rapamycin”) kináz-közvetített jelátvitel útvonal (TOR „signalling”) és a mitokondriális légzésben résztvevő gének által alkotott genetikai kaskád. Megválaszolatlan kérdés maradt az, hogy vajon ezek az öregedést szabályozó genetikai útvonalak egymástól függetlenül működnek vagy egymással kölcsönhatnak az élethossz szabályozásában.

Az öregedő sejtek alapvető sajátossága a károsodott makromolekulák (elsősorban fehérjék) és sejtstruktúrák felhalmozódása a citoplazmában, amely a fehérje szintézis és lebontás valamint az organellek biogenezis egyensúlyának megbomlásából fakad. A sejtalkotók lebontásának fő útvonala az autofágia, amely az eukarióta sejtek egyik alapvető szabályozott önmegsejtesítő folyamata. TDK munkámban számos autofág gént inaktiváltam a genetikai modell rendszer fonálféreg *Caenorhabditis elegans*ban. Az autofág mutáns fonálféreg törzsek jellemzően megrövidült élethosszt mutattak a vad típusú állatokhoz képest. Eredményeim tehát egy új öregedési útvonalat tártak fel: az autofág génkaskád szerepét mutatták ki az élethossz megnyújtásában.

További kísérletekben a hosszú életidejű inzulin/IGF-1, TOR és mitokondriális respiráció-defektív egyszeres mutáns fonálféregben gátoltam az autofág gének működését. Episztázis elemzésem (kettős mutánsok előállítása és élethossz jellemzése) eredményei azt mutatják, hogy az autofág gének funkcióvesztéses mutációja vagy (gén) csendesítése RNS interferenciával szuppresszálja az inzulin/IGF-1, TOR és mitokondriális útvonal mutánsok hosszú élethossz fenotípusát. Ez azt sugallja, hogy ezen genetikai útvonalak öregedési folyamatot szabályozó hatásai az autofág géneken integrálódnak. Más szavakkal, az autofág gének „downstream” hatnak az eddig ismert élethossz szabályozó genetikai útvonal-rendszerektől.

GENET-3

**Mikroszatellita markerek szegregálódásának vizsgálata
Duchenne muscularis dystrophiában**

Fülöp Szabina

V. biológus

PTE TTK Genetikai és Molekuláris Biológiai Tanszék

témavezető: Czakó Márta tudományos segédmunkatárs

konzulens: Dr. Putnoky Péter egyetemi tanár

A Duchenne muscularis dystrophia (DMD) öröklésmenete X-hez kötött recesszív, amely ezért a fiúkat érinti. Mutáció következtében rendellenes dystrophin fehérje szintetizálódik, amely progresszív izomsorvadást okoz.

Eredményeink közül két családot emelnénk ki. A mutációk (deléciók) vizsgálatára multiplex PCR analízist alkalmaztunk. DMD esetében a deléció gyakran nagy kiterjedésű, több exont érint. 18 primerpár segítségével azokat az exonokat amplifikáltuk, amelyek deléciója gyakrabban fordul elő (deléciós hot spot). A családtagok által örökölt X kromoszómák azonosítására mikroszatellita marker analízist végeztünk. Ezzel a módszerrel a markerekben található dinukleotid ismétlődések számában levő különbséget tudjuk kimutatni a fragmentumok eltérő hosszúsága alapján, így az egyes allélek egymástól megkülönböztethetők.

Egyik családban két, DMD-ban szenvedő fiú gyermek mutációanalízise a 45-50 exonok delécióját mutatta mindkettejükben. Ez alapján arra következtettünk, hogy mindkét fiú ugyanazt, a deléciót hordozó X kromoszómát örökölte az anyától, aki feltehetően hordozó. Mindezeket mikroszatellita marker analízissel kívántuk igazolni. A markerek mintázata alapján megállapítottuk, hogy a két fiúban különböző anyai X kromoszóma található, azonban ugyanaz a deléció van jelen mindkét X kromoszómán. A váratlan eredmény alapján arra következtettünk, hogy az anyai ivarsejt osztódásakor rekombináció történt, amely magába foglalta a deletált génszakaszt, így a mutáció az érintetlen X kromoszómára is átkerült.

Másik családban a genetikai tanácsadáson megjelent fiatal nő (proband) elsőfokú unokatestvérénél korábban DMD-t diagnosztizáltak (a proband édesanyja a beteg fiú anyjának a testvére). A beteg családtagnál a mutációanalízis a 3-19 exonok delécióját igazolta. A DMD hordozás kockázatának megállapítására elvégzett vizsgálatok eredménye alapján megállapítottuk, hogy a tanácsot kérő nő édesanyja és a beteg fiú édesanyja eltérő X kromoszómát örökölték a nagymamától. A probandban és egészséges fiú testvérében ugyanaz az anyai X kromoszóma található. A beteg fiú és egészséges fivérének X kromoszómája szintén megegyező. Ebben az esetben az anyát nem tekintjük hordozónak, a betegben a DMD-t új mutáció okozta. Mindezek alapján a DMD előfordulási kockázata a proband gyermekeiben nem emelkedett.

A vizsgálatok során a mikroszatellita marker analízis alkalmasnak bizonyult arra, hogy a családtagok hordozóságát megerősítsük vagy kizárjuk, illetve a betegség kialakulását nyomon kövessük.

**A dDAAM formin fehérje kifejeződése és szerepe a *Drosophila melanogaster* hím
genitália fejlődésében**

Gedai Anita Judit

IV. biológus

SZTE TTK Genetikai és Molekuláris Biológiai Tanszék

témavezető: Dr. Mihály József tudományos főmunkatárs

konzulens: Dr. Maróy Péter egyetemi tanár

Kísérleteim egy új *Drosophila* formin fehérje, a *dDAAM* vizsgálatára irányulnak. A forminok az aktin sejtvázas fő szabályozó fehérjéi közé tartoznak, elősegítik az új filamentumok képződését és fokozzák az aktin polimerizáció sebességét. A csoportunk által leírt *dDAAM* fehérjéről korábban kimutattuk, hogy egyik fontos funkciója a trachea kutikula mintázatának meghatározása egy speciális aktinváz létrehozása útján. Széleskörű kísérleteket végeztünk el ennek a fehérjének az embrionális központi idegrendszerben betöltött funkciójáról, illetve az axon nyúlványok növekedésére vonatkozó fontos szerepével kapcsolatban. Ebben a dolgozatban pedig a *dDAAM* egy újabb, a hím genitáliák fejlődéséhez köthető funkciójának a jellemzését fogom bemutatni.

A *Drosophila*-k egyedfejlődésének egyik érdekessége, hogy a hím genitális szervek egy 360°-os rotáción mennek át az utóbélhez képest. Az X kromoszómán található *dDAAM* gén gyenge hipomorf *dDAAM^{Ex1}* alléljét hordozó egyedek homo- és hemizigóta formában is életképesek, s a hímekben 19%-os penetranciával megjelenő genitália rotációs hibákat figyeltünk meg. Az amorf allélnek tekinthető *dDAAM^{Ex68}* mutánsok viszont homozigóta formában életképtelenek, ezért gynander analízissel vizsgáltuk meg, hogy befolyásolják-e a genitália rotációt, és ebben az esetben 100%-os penetranciájú fenotípust kaptunk. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a *dDAAM* gén terméke szükséges a genitália rotáció szabályozásához. A továbbiakban vizsgáltuk a *dDAAM* kifejeződését a genitális diszkuszban és megállapítottuk, hogy szegmentspecifikus expressziót mutat. A genetikai vizsgálatokat elősegítendő, RNSi mutánsokat is készítettünk, amelyek szintén mutatták a genitália rotációs hibákat. Ez a fenotípus azonban hőérzékenységet mutatott, így lehetőségünk van pontosabban meghatározni azt a periódust, amikor szükség van a *dDAAM* gén termékére a genitália rotáció folyamán.

Végezetül genetikai interakciós keresztezésekkel azonosítottunk potenciális együttműködő partnereket. Ezek a vizsgálatok azt mutatták, hogy a *dDAAM* a *RhoA*, az *Src42*, a *Tec29* és az *inversus* génnekkel együttműködve szabályozza a hím genitáliák rotációját.

GENET-5

A tömegstressz hatása a *Drosophila*-k ellenálló képességére és genetikai stabilitására

Jipa András és Kovács Levente

III. természettudományok szakos gimnazista; II. biológia

Salamon Ernő Elméleti Gimnázium; Babeş-Bolyai Tudományegyetem Biológia-Geológia Kar

témavezető: Dr. Csermely Péter egyetemi tanár

Több lépésből felépülő kutatásunk annak vizsgálatára irányult, hogy miként hat a tömegstressz a különböző stresszhatások során fokozott aktivitást mutató stresszfehérjékre és ez hogyan nyilvánul meg fenotipikusan. Kísérleti modellszervezetként az ecetmuslicát (*Drosophila melanogaster*) alkalmaztuk. A tömegstresszet esetükben úgy idéztük elő, hogy egy 20 ml-es tenyészedénybe az optimális tíz egyed helyett 25-30 egyedet helyeztünk. Ez volt kísérletünk alapállása.

A kutatások további menetét két vonalra bontottuk. Első vizsgálatunkban azt néztük meg, hogy miként hat a tömegstressz a *Drosophila*-k magas hőmérséklettel szembeni ellenállóképességére (termotoleranciájára). Nem tömegstresszelt illetve négy és nyolc napig tömegstresszben tartott gyümölcslegyeket tettünk ki hősokknak. A hősokkolás úgy zajlott, hogy az állatokat kis üvegcsékbe tettük és azt 40 C-fokos vízbe helyeztük egy óra hosszáig. Ezután a kezelt egydeket egy napig szobahőn hagytuk, majd megszámoltuk, hogy az egydek hány százaléka élte túl a kezelést.

Azt tapasztaltuk a fenti kísérlet során, hogy az ecetmuslicák túlélési aránya növekedett a tömegstresszben eltöltött idő függvényében.

Kutatásainak második vonalában arra voltunk kíváncsiak, hogy a tömegstressz van-e valamilyen hatással a *Drosophila*-k genetikai állományára, vagy esteleg szerepet játszhat-e valamilyen rejtett mutációk felszínre jutásában. Ennek kimutatására krónikus tömegstressznek vetettük alá állatainkat, azaz több generáción keresztül tartottuk őket tömegstresszes körülmények között. A tömegstressz fokozása érdekében penészt is adagoltuk a táptalajhoz. A penész tápanyagokat von el, továbbá bizonyos toxinokat termel, fokozva ezzel a tömegstresszes körülményeket. A negyedik generációban 6 szárnymalformáns egyed bukkant fel a tenyészetben. Ezeknél az állatoknál tapasztalt rendellenesség kialakulásában a tömegstressz is szerepet játszott. A csak penésszel, csak tömegstresszel illetve semmivel sem kezelt tenyészedényeknél (a kontrolloknál) nem bukkant fel hasonló mutáns, tehát valamiféle penész és tömegstressz közti kölcsönhatás vezethetett a megfigyelt szárnymalformáció kialakulásáért.

A hsp70 stresszfehérje-gének száma és a termékenység kapcsolata

Kovács Levente és Sajgó Szilárd

II. biológia

Babeş-Bolyai Tudományegyetem Biológia-Gelológia Kar

témavezetők: Csermely Péter egyetemi tanár

Dr. Söti Csaba egyetemi adjunktus

konzulens: Dr. Kósa Ferenc egyetemi tanár

A Hsp70 (a 70 kDa tömegű hősokk fehérje) változatos funkciókat tölt be a sejten belül: a újonnan születő fehérjéknek segít megtalálni végső térszerkezetüket, stressz során károsodott egyéb fehérjék szerkezetét javítja ki, résztvesz bizonyos anyagcsereutak alkotásában. Kutatásunk során azt vizsgáltuk, hogy a *Drosophila melanogaster* gyümölcslégy szervezetében e fehérjét kódoló gének száma hogyan befolyásolja a termékenységet. Az alapesetben tíz azonos Hsp70 génkópiát hordozó legyekből genetikai módszerekkel kialakítottunk kettő, három, öt, hét és nyolc kópiát hordozó mutánsokat. Ezek termékenységét tesztelve azt találtuk, hogy a gének számának csökkenésével csökken az egyedek termékenysége is. Ezzel együtt vizsgáltuk a szaporítóképzőszékben történt elváltozásokat: a méhben felhalmozódott érett peték, le nem vált follikuláris sejtréteg. Kísérleteink bebizonyították, hogy a Hsp70 stresszfehérje mennyisége és a termékenység között szoros összefüggés van. Kevesebb *hsp70* gén jelenlétében az egyedek termékenysége lényegesen kisebb. Eredményeink szerint a Hsp70 mennyisége/aktivitása az egyedek ön- és fajfenntartása közötti kapcsolat egyik szabályozó mechanizmusa lehet.

GENET-7

Az osztódási orsó tanulmányozása a vihar mutánsokkal

Kovács Tibor

IV. biológia-környezetvédelem

NYF TTFK Agrár és Molekuláris Kutató Intézet

témavezető: Dr. Máthé Endre főiskolai tanár

Az osztódási orsónak ún. acentrikus és centrikus szerveződés típusai ismertek. A acentrikus szerveződést archaikusabb típusnak tartják, hiszen kialakulásukhoz nem szükséges a centroszóma. Tanulmányozásuk fontos megfigyelésekhez vezethet a kromoszómák, mikrotubulusok és motor molekulák összjátékát illetően.

Ezen kísérletek kapcsán a vihar gén katalitikusan inaktív allélját fejeztettük ki a *Drosophila melanogaster* nőstények csíravonalában. Azt figyeltük meg, hogy olyan nőstény csíravonal sejtek, amelyek normális körülmények között soha sem osztódnak, a vihar mutáció következtében acentrikus orsók kialakulásához vezettek. Tanulmányoztam ezen acentrikus orsók a fontosabb kromoszóma fehérjék, mikrotubulus motorok és sejtciklus reguláló fehérjék lokalizációját. Eredményeink arra engednek következtetni, hogy a nőstények csíravonalának sejtjeiben egy tranziens mitotikus állapot alakul ki, amelyet normális körülmények között nem követ az orsó kialakulása. A rendellenes orsók pedig a kromoszómák és mitotikus promoterek összjátéka eredményeképpen alakulnak ki.

Az ubiquitin konjugáló enzimek molekuláris genetikai elemzése

Németh Tamás

IV. biológia -környezetvédelem

NYF TTFK Agrár és Molekuláris Kutató Intézet

témavezető: Dr. Máthé Endre főiskolai tanár

Az eukarióta szervezetekben a fehérjék sorsát, funkcióját jelentős mértékben befolyásolják a poszttranszlációs modifikációk. Az ubiquitináció is egy ilyen poszttranszlációs modifikáció, amelyet egy hármas enzim rendszer végez. E hármas enzimrendszer egyik komponense az ún. E2-enzimek, amelyeket számos gén kódol a különféle fajok sejtjeiben. Feladatom a *Drosophila melanogaster* E2 enzimjeit kódoló gének genetikai vizsgálata. A *Drosophila* genomban 29 E2 enzimet kódoló gén található és ezek közül 4-nek ismert valamennyire a funkciója.

Genetikai analízissel fel lehet deríteni a gének és termékeik funkcióját. A módszer lényege: „sérült” vagy mutáns allélok fenotípusa alapján következtethetünk az ép gén funkciójára. A különböző gének mutáns alléljainak együttes vizsgálata (transzheterozigóta állapot: $G\acute{E}N1^{M/+}; +/G\acute{E}N2^M$) fényt deríthet olyan interakciókra, amelyek a különféle gének termékei között jönnek létre. Az interakciókra rendszerint módosult mendeli számarányok mutatnak rá (letalitást és sterilitást eredményez).

A feladatom komplementációs analízis elvégzése mutáns *vihar*, *lesswright* és *ubc* törzsekkel. A kikelt egyedek számát pontosan rögzíteni és rendszerezni az előzőekben megemlített fenotípusos és nemi jellegük alapján.

Egyes *lesswright* törzseknél homozigóta mutáns egyedek mitotikus fenotípust mutatnak II. és III. lárvastádiumban. A lárvák fejlődésével a nekrotikus területek száma és mérete növekszik. Ezek agyából dörzspreparátumot készítettem és megvizsgáltam fázis kontraszt mikroszkóp segítségével. Azt tapasztaltam, hogy a mutáns neuroblastokban a sejtciklus profázis szakaszában a kromoszómák rendellenesen kondenzálódnak, leginkább egy gyöngyfűzérre hasonlítanak. Ez valóban azt jelenti, hogy a mutációk következtében ezek a sejtek nem fejezik be a sejtosztódást. Ami arra utal, hogy az ép *lesswright* gén terméke a sejtosztódás elkezdésében szükséges.

GENET-9

A foszfoprotein foszfatáz Z (*ppz*) gén vizsgálata *Emericella nidulans* és *Aspergillus fumigatus* fonalas gombákban

Oláh Judit

V. molekuláris biológus

DE TTK Mikrobiális Biotechnológiai és Sejtbiológiai Tanszék

témavezető: Miskei Márton tanszéki mérnök

Dr. Pócsi István tanszékvezető

Munkánk során *Emericella nidulans* és *Aspergillus fumigatus* fonalas gomba protein foszfatáz Z génjét (*ppz*) vizsgáltuk különböző molekuláris biológiai módszerekkel. Ennek az esszenciális gombaspecifikus fehérjének a megismerése volt a célunk. A protein foszfatázok a foszfát hidrolízisét, vagyis a defoszforilációt katalizálják. A protein foszfatáz Z (PPZ) egy új típusú PPP enzim, amit *Saccharomyces cerevisiae*-ben találtak meg legelőször, és amely a Ser/Thr-specifikus protein foszfatázok közé tartozik. Amellett, hogy a Ppz az ozmotikus stressz válaszban alapvető mechanizmusokat kontrollál, és a sejtintegritást szabályozza, részt vesz a transláció elongációjában. A Glc7 foszfatázzal együtt ellensúlyozza a Sit4 foszfatáz működését a sejt ciklus szabályozásában, és hatással van a Na⁺ és K⁺ homeosztázisra az ENA1 és TRK1 függő útvonalokon keresztül. A PPZ fehérjék nem találhatók meg emberben, vagy más eukarióta élőlényben, gombaspecifikus fehérjék, így stratégiailag fontosak lehetnek egy gombaellenes szer előállításában.

Célul tűztük ki az *Emericella nidulans* és *Aspergillus fumigatus* fonalas gombában megtalálható *ppz* gén és a csak kódoló régiót tartalmazó cDNS szekvenálását. A kapott eredményeket összevetettük az adatbázisban található szekvenciákkal, és míg az *Emericella nidulans* esetében nem volt eltérés, az *Aspergillus fumigatus* esetében eltérő eredményt kaptuk az adatbázisokban leírtakkal szemben. Különböző bioinformatikai módszerekkel meghatároztuk a gén, illetve a feltételezett fehérje szerkezetét. Promóter analízissel feltérképeztük a feltételezett transzkripciós kötőhelyeket. Filogenetikai összehasonlítást végeztünk az összes, általunk is elérhető adatbázisokban lévő PPZ aminosav szekvenciákkal. Megvizsgáltuk az általunk talált *E. nidulans ppzA* gén expresszió változásait oxidatív, ozmotikus, pH, nehézfém stressz, illetve szén, nitrogén éhezés és hő sokk hatására. Megállapítottuk, hogy ozmotikus, pH stressz, és hő sokk hatására változás történt a *ppzA* gén expresszió szintjében. Azonban arra a következtetésre jutottunk, hogy a *ppz* gének transzkripciós szabályozásánál jelentősebb a fehérje-fehérje kölcsönhatás általi szabályozás.

DNS metiláció és fehérje-DNS kölcsönhatások szerepének vizsgálata a CD23a és b promoter Epstein-Barr vírus általi transzaktivációjában

Szenthe Kálmán Sándor

IV. biológus

ELTE TTK Immunológia Tanszék

témavezető: Dr. Salamon Dániel orvos

konzulens: Dr. Erdei Anna egyetemi tanár

A CD23 felszíni receptor (kis affinitású IgE receptor; FcεRII) központi szerepet játszik a B-sejtek aktiválásában és proliferációjának szabályozásában. Két típusa van CD23a és b. Az Epstein-Barr Vírus (EBV) *in vitro* immortalizálja a fertőzött humán B-sejteket és számos malignus daganatban kimutatható. A CD23a-promotert az EBV látens fehérjei – elsősorban az EBV nukleáris antigén 2 (EBNA2) – transzaktiválni képesek. Korábbi *in vitro* munkák számos potenciális faktor-kötőhelyet azonosítottak a promoter régiókon, de az EBNA2 általi transzaktivációban szerepet játszó DNS szakaszok és faktorok egyértelmű azonosítása máig nem történt meg. Ehhez hasonlóan eddig nem végeztek a promoterek teljes területét lefedő DNS-metilációs és hiszton-acetilációs vizsgálatot sem.

Munkám során ezért különböző érési stádiumú, a CD23-at eltérő mértékben expresszáló EBV⁺ illetve EBV⁻ B-sejtvonalakban és egy EBV⁺ epitheliális sejtvonalban meghatároztam a CD23a és b promoterrégió pontos szekvenciáját, valamint biszulfid-modifikálást követő direkt szekvenálás segítségével elkészítettem a régiók metilációs térképeit. Ezen kívül kromatin immunprecipitáció (ChIP) majd azt követő real-time PCR segítségével meghatároztam a CD23a promoterén az acetilált H4-hiszton mennyiségét, valamint DMS *in vivo* footprinting segítségével vizsgáltam a CD23a promoter egy szakaszának *in vivo* DNS-fehérje kölcsönhatásait.

A CD23a promoterrégió szekvenálása során 6, korábban még nem publikált polimorfizmust azonosítottam. A biszulfid szekvenálás eredménye kimutatta, hogy a CD23a promoter metilációs mintázata elsősorban a lymphoid sejtek érési stádiumától és kevésbé a régióról induló transzkripció mértékétől függ, valamint hogy a CD23b promoter esetén a -109 pozíciójú CpG dinukleotid metilációs állapotának központi szerepe lehet a promoter aktivitásának szabályozásban. A ChIP vizsgálat kimutatta, hogy a CD23a promoter acetilált H4-hiszton tartalma elsősorban a promoter aktivitásától függ. A CD23a promoter DMS *in vivo* footprinting vizsgálata során sikerült egy eddig még nem ismert faktor kötőhelyét kimutatni.

GENET-11

A Prod fehérje telomerikus funkciójának vizsgálata ecetmuslicában

Takács Sándor

biológus (2006.)

SZTE TTK Genetikai és Molekuláris Biológiai Tanszék

témavezető: Dr. Török Tibor egyetemi docens

Munkám során a *Drosophila* Prod fehérje telomerikus funkciójának vizsgálatával foglalkoztam. A *Drosophila* telomerei 3 elkülöníthető egységből állnak: 1. a szabad DNS véget védő capping fehérje komplexből; 2. a kromoszómákat a replikációs rövidüléstől megvédő (azokat folyton hosszabbító) retrotranszpozon ismétlődésekből; 3. szubtelomerikus heterokromatinből (TAS).

Vad típusú *Drosophila* óriáskromoszómák immunhisztokémiai festése során a Prod fehérje telomerikus lokalizációját figyeltük meg.

Genetikai és immunhisztokémiai módszerekkel megvizsgáltuk, hogy a fent említett 3 szakasz közül melyekhez kötődhet a Prod. Létezik egy olyan deléciót hordozó mutáns törzs (y^1), amely teljes mértékben eltávolítja a TAS régiót az X kromoszómáról. Megfestettük a y^1 mutáns óriáskromoszómáit Prod ellenanyaggal és azt találtuk, hogy az X kromoszómán fennmaradt a Prod fehérje telomerikus lokalizációja. Ebből arra következtettünk, hogy a Prod nem a TAS régióhoz köt.

A *Tel* mutáns rendkívül hosszú *HeT-A* retrotranszpozon ismétlődést tartalmaz a telomerein. A *Tel* törzset vad típushoz keresztezve a homológ kromoszómák végei jelentős hossz különbséget mutatnak. A *Tel/+* heterozigóta telomerek Prod immunfestése során a túlnyúló szakasz teljes hosszában intenzív festődés figyelhető meg, ami arra utal, hogy a Prod fehérje a mutánsban a megnövekedett mennyiségű retrotranszpozonhoz kötődik, nem pedig a telomer cap struktúrájához.

Biokémiai módszerekkel is megvizsgáltuk a Prod fehérjének a *HeT-A* DNS-hez való kötődését. Azt találtuk, hogy a Prod ellenanyaggal koprecipitálható DNS szakaszok a *HeT-A* promóterének felelnek meg. Kvantitatív real-time PCR-rel mért adataink pedig arra utalnak, hogy a Prod fehérje a *HeT-A* promóteren transzkripciós represszorként működik, azonban a megnövekedett transzkripciós szint önmagában még nem elegendő a transzpozíciók gyakoriságának megemelkedéséhez. Ennek az lehet a magyarázata, hogy a mutánsokban intakt marad a cap struktúra, amely megakadályozza a szabad DNS végekre történő retrotranszpozíciót.

Ez az eredmény azért jelentős, mert a Prod fehérjén kívül idáig csupán két retrotranszpozonokhoz kötődő fehérjét azonosítottak, de szerepük nem ismert.

Az APC/C komplex Apc10 alegységének genetikai analízise *Drosophila melanogaster*-ben

Varga Kata

V. biológus

SZTE TTK Genetikai és Molekuláris Biológiai Tanszék

témavezető: Dr. Deák Péter tudományos főmunkatárs

konzulens: Dr. Boros Imre egyetemi tanár

Az eukarióta sejtciklus szabályozásában alapvető szerepe van az ubiquitin-függő proteindegradációs rendszernek, amelynek központi eleme az anafázis promotíng komplex, vagy APC. Az APC más enzimekkel együtt katalizálja poli-ubiquitin láncok kialakulását mitotikus szabályozó fehérjéken. Az így megjelölt fehérjéket felismeri és lebontja a 26S proteoszóma. Az APC egy evolúciósan konzerválódott komplex, aminek struktúrális és funkcionális homológjait kimutatták az élesztőtől egészen az emberig.

Több fontos kérdés még megválaszolatlan az APC felépítésével, funkciójával és szabályozásával kapcsolatban is. Nem értjük még, hogy miért áll az APC több mint tíz alegységből, és nem ismerjük az egyes alegységek szerepét sem. Nem tudjuk, hogy mi a szerepe az APC-nek a poli-ubiquitin láncok kialakításában: van-e valódi enzimaktivitása, vagy csupán dokkoló állomásként szolgál a szubsztrát fehérjék és az ubiquitináló enzimek számára.

Munkám során az *ecetmuslica* APC Apc10 alegységének funkcióját vizsgáltam az alegységet kódoló gén kiütésén, és a létrejött fenotípus analízisén keresztül. Erre P elem inszerciós és homológ rekombinációval előállított allélokat azonosítottunk illetve állítottunk elő, továbbá a gén expressziójának csendesítésére a transzgénikus RNS interferencia módszerét alkalmaztuk. Jellemzésük során kiderült, hogy a homozigóta *Apc10* mutánsok jellegzetes fejlődési rendellenességeket mutatnak: imágókorongjaik csökevényesek, központi idegrendszerük fejlődése elmarad, és egyedfejlődésük a báb stádium különböző szakaszaiban megreked. Citológiai vizsgálatuk során megállapítható volt, hogy az *Apc10* mutánsokban magas a mitotikus index, a kromoszómák túlkondenzáltak és sejtjeik gyakran aneuploid, vagy poliploid kromoszóma készlettel rendelkeznek. A sejtosztódás leáll, vagy jelentősen lelassul egy metafázis-szerű állapotban, anélkül, hogy a kromoszómák a mitotikus orsó egyenlítői síkjához vándorolnának. Az egyik legfontosabb APC szubsztrát, a ciklin B nem bomlik le az *Apc10* mutánsokban, azonban egy másik szubsztrát, a szekurin lebomlására utaló jelek megfigyelhetők. Kísérleti eredményeinkből arra következtetünk, hogy az Apc10 alegység alapvető APC részfunkciókban játszik szerepet.

HIDROBIOLÓGIA, HIDROÖKOLÓGIA 1. TAGOZAT

HIDRO1-1

A fitoplankton elsődleges termelésének fényintenzitás-függése

Ágyi Ákos

III. biológus

BBTE BGK Kísérleti biológia tanszék

témavezetők: Dr. Fodorpataki László egyetemi docens

Dr. Vörös Lajos tudományos kutató

A fitoplankton elsődleges termelésének meghatározása az egyik legfontosabb követelmény a vízi ökoszisztémák állapotának vizsgálatában. Régebben a fitoplankton elsődleges termelését in situ határozták meg. E módszernek számos hátránya van: költséges és időigényes, egyszerre csak egy helyen végezhető, és az eredményt számos külső tényező szimultán változása befolyásolja. Ezért újabban különböző szimulációs technikákat alkalmazunk (fitotrónok és fotoszintetronok használata) a helyi inkubálás kiváltására. Fitotrónban különböző fényintenzitásokon egyszerre több különböző helyről származó vízmintát is lehet inkubálni. Kísérleteink során mértük a fitoplankton elsődleges biomassza-termelését (radioaktív szénizotóp megkötése által), és vizsgáltuk a fotoszintetronban kapott eredmények alkalmazhatóságát a természetben, a helyi inkubálás eredményeit összehasonlítottuk a fotoszintetronban kapott eredményekkel. Ezúton pontosabb információt kapunk a fitoplankton fotoszintetikus fényhasznosításáról.

HIDRO1-2

Kovaalga közösségek vizsgálata 3 különböző mérési módszer (a fajok relatív gyakorisága, teljes felszínhez ill. biomasszához való hozzájárulása) alapján

Bíró Petra

V. környezettudomány

PE MK Analitikai-, Környezettudományi- és Limnológiai Intézet

témavezető: Stenger-Kovács Csilla PhD hallgató

A bevonatlató kovaalgák fajszáma igen nagy, s fajaik nagy méret és alakbeli változatossággal rendelkeznek. A fitoplankton társulás-ökológiában a változások volumetrikus biomassa alapján történő elemzése általánosan elfogadott módszer, melynek alapja, hogy e változó hozható összefüggésbe a készletfelosztási modellekkel. A kovaalga közösségek összetételét azonban tradicionálisan a fajok relatív gyakoriságával jellemzik, mely nem számol a fajok közötti méretkülönbségekkel. Máig kevésbé vizsgált terület, hogy a kovaalga közösség analízisét relatív gyakoriságra vagy volumetrikus biomassa számításra alapozzák-e.

Munkám során 23 patak bentikus kovaalga közösségét vizsgáltam 3 különböző módszer (fajok relatív gyakorisága, teljes felszínhez ill. biomasszához való hozzájárulása) alapján, továbbá meghatároztuk a patakok tápanyag (N és P formák) tartalmát. A biomassa számításához szükséges mérésekhez a NAWQA (2001) által javasolt módszert követtem, a gyakori fajok (relatív gyakoriságuk > 5%) esetén 5 egyed térfogatát számítottam ki, az adatokat átlagoltam majd az egyes családokra javasolt térfogat számítási módszert alkalmaztam.

Eredményeink azt mutatják, hogy az egyes fajok jelentősége az egyes mintákban a használt vizsgálati módszertől függ. A legnagyobb különbségek akkor figyelhetők meg, ha a közösséget nagy számú kis faj és kevés nagy faj alkotja, illetve kisebb a különbség, ha a felszínszámításokat vesszük figyelembe a térfogat adatok helyett. A kovaalga közösség teljes biomasszájának mennyiségét elsősorban a vízben lévő nitrit mennyisége határozta meg, míg az összes foszfor koncentrációja az algaközösség össz- és relatív felszínének nagyságát befolyásolta.

Az egyes fajok a különböző mérési módszerek alapján más jelentőséggel bírnak az egyes indexek számításakor, illetve eltérő módon jelzik a természetes vizekbe érkező szennyezés mértékét. Ugyanabban a közösségben az általánosan használt relatív gyakoriság alapján számított kovaalga indexek közül a biológiai monitorozásban leggyakrabban alkalmazott IPS és a szintén szennyezés indikátor WAT index volt indikátora a Kjeldhal nitrogén és összes foszfor mennyiségének, míg biomasszához és felszínhez való hozzájárulás alapján számított indexek esetén ezek az indexek már nem jelzik sem a foszfor, sem a nitrogén nagyobb mennyiségét. Ezen mérési módszerek esetén a DESCY, LMA és SHE indexek mutattak szignifikáns pozitív korrelációt az összes nitrogén mennyiségével.

A tapolcai Tavasbarlang és a budapesti Molnár János-barlang planktonikus faunája

Domina Eszter Mária

V. biológus

ELTE TTK Állatrendszertani és Ökológiai Tanszék

témavezető: Dr. Forró László tárigazgató

konzulens: Dr. Farkas János egyetemi adjunktus

A barlangok különleges környezeti feltételei között élő, specializálódott organizmusokat régóta kutatják, de a felszín alatti világ planktonjának feltárására Magyarországon még nem nyílt lehetőség. Kutatásunk célja ezért a budapesti Molnár János-barlang és a tapolcai Tavasbarlang planktonikus faunájának vizsgálata. A barlangok kiválasztásakor fontos szempont volt a könnyű megközelíthetőség. A kutatás a planktonikus állatokra, főként a kistrák faunára irányult. Mindkét barlang melegvízű (18-27 °C) és mindkettőre kisebb áramlás jellemző.

A mintavételezés 2005. márciusában kezdődött Tapolcán, majd 2005. április 10.-én engedély hiányában bizonytalan időre lezárult, eddig két hétvége alatt öt mintát vettünk. A Molnár János barlangban 2005. május 5. óta napjainkig közel havi rendszerességgel folyik a mintavétel. A mintavételezéshez kétféle planktonhálót és egy csapda típust használtunk. A mintákat bűvármerülés végrehajtása közben, víz alatt vettük.

A befogott fajok egy része a felszíni vizekből illetve a talajból bemosódással került a barlangokba. Tipikusak az evezőlábú, az ágascsapú és a kagylósrákok, az alábbi genusok képviselőit találtuk a mintákban: *Alona*, *Bosmina*, *Daphnia*, *Diaptomus*. Ezen kívül egy Oribatida faj is előkerült, a *Cosmothoë lanatus* (Michael, 1885), mely szénában tipikus. A kistrák fauna mellett a Molnár János-barlangban endemikus a *Niphargus thermalis*, Dudich, 1941.

A vontatott planktonhálósával vett minták esetében feltűnő volt a *Bosmina* fajok képviselőinek nagy száma. A minták elemzése során derült fény arra, hogy a kézi hálósával kis számú, átlagosan 3,4 egyedet fogtunk, míg a nagyobb méretű vontatóhálóban átlagosan 192,5 állat volt. Mivel a barlangban nagyságrendekkel kevesebb organizmus él, mint a felszíni vizekben, a nagyobb méretű háló használata ésszerű, de szállításának nehézségei korlátozzák alkalmazását. Emellett valószínű, hogy a nagyobb lyukbőségű hálót víz alatt eredményesebben lehet használni. Ezek alapján barlangi kutatásokra egy kis méretű, de 150 µm lyukbőségű háló lenne a legmegfelelőbb.

Bebizonyosodott, hogy ezekben a kristálytiszta vizekben is élnek organizmusok, még ha többnyire néhány milliméteresek is. Az elkövetkezendőkben remélhetőleg tovább folytathatom a kutatást a fenti és további barlangokban.

HIDRO1-4

A Hegyköz kisvízfolyásainak vízminőségi vizsgálata

Gyarmati Mariann

V. földrajz-környezettan

DE TTK Alkalmazott Ökológia Tanszék

témavezetők: Dr. Lakatos Gyula egyetemi docens

Dr. Szabó György egyetemi adjunktus

Magyarországon a felszíni vizek vízminőségi állapotának ellenőrzésére egy törzshálózat működik, mely elsősorban a jelentősebb vízfolyásokat vizsgálja. Az EU Víz Keretirányelv (VKI) bevezetését megelőző felmérés szerint viszont éppen kisvízfolyásaink vannak rosszabb helyzetben.

Dolgozatunkban célul tűztük ki, hogy áttekintést adjunk néhány kisvízfolyás, pontosabban a Zempléni-hegység északi részén, a Hegyközben található Bózsza-patak és mellékvízfolyásainak vízminőségi állapotáról. Célunk továbbá – eredményeink tükrében – annak megállapítása, hogy a Bózsza kezelhető-e referencia vízfolyásként.

A vizsgált kisvízfolyásokon (Bózsza-, Nyíri-, Kemence-, Bisó-, Alsó-, Falu-patak) összesen 19 mintavételi pont lett kijelölve olyan elrendezésben, hogy információt nyerjünk bizonyos szennyező források (település, szennyvíztisztító telep) vízminőséget befolyásoló hatásairól.

A mintavétel évszakonként, összesen 5 alkalommal történt.

A terepen minden mintavételi ponton megmértük a patakok vizének hőmérsékletét, pH-értékét, vezetőképességét és oldott oxigén tartalmát, majd laboratóriumban elvégeztük a lebegőanyag-, ammónia-, nitrit-, nitrát-, ortofoszfát- és a szervesanyag-tartalom meghatározását, valamint két nyári mintából toxikológiai csíranövény-tesztet is készítettünk.

A kisvízfolyások minőségének megállapítása a jelenleg érvényben lévő, a felszíni vizekre vonatkozó szabvány (MSZ 12749) szerint történt.

A Hegyköz területén, ahol a települések lélekszáma viszonylag alacsony, és nincs jelentősebb ipari és mezőgazdasági termelés, vagyis antropogén hatásokkal kevésbé terhelt, a kisvízfolyások vízminőségét kedvező állapotúnak feltételeztük. A laboratóriumban elvégzett vizsgálatok alapján azonban jóval árnyaltabb – és kevésbé kedvező – képet nyertünk.

HIDRO1-5

A Keszthelyi- és a Siófoki-öböl üledékében megtalált ágascsapú rákok összehasonlító vizsgálata

Gyulai István

V. környezettudomány

DE TTK Alkalmazott Ökológiai Tanszék

témavezető: Dr. Korponai János

konzulens: Dr. Lakatos Gyula egyetemi docens

Az utóbbi években a tavi paleoökológia jelentős változáson ment keresztül. A tavakat ért antropogén hatások vizsgálatára új, hatékony mennyiségi és minőségi eljárások terjedtek el. A planktonikus és bentonikus közösségek vizsgálata új, előzőleg a hagyományos módszerekkel meg nem szerezhető információkkal lát el bennünket a planktonfogyasztó halállomány változását, hínarasodás mértékét, a tavak produktivitását illetően. Ezen új módszerek lehetővé teszik a múltban lejátszódott változások komplexebb elemzését, jelzik a trofikus struktúra változásának bekövetkeztét, valamint bepillantást engednek a vízi gerinctelen szervezeteknek az emberi hatásokra adott gyors evolúciós válaszokba. Az ágascsapú rákok (Cladocera) a hazai sekély állóvizeinkben faj- és egyedszám tekintetében egyaránt jelentős csoport, amely viszonylag nagy fajszámmal fordul elő (98 hazai faj).

A Keszthelyi- és a Siófoki-öböl üledékének a megfűrésével az volt a célunk, hogy betekintést nyerhessünk a tó hajdani életébe, hogy megismerjük a Keszthelyi- és a Siófoki-öböl üledékének a Cladocera fajait évekre, évtizedekre visszamenőleg. A fauna megismerésével következtetni tudunk a hajdani változások okaira, figyelemmel kísérjük az eltérő üledékképződési sebességeket és az esetleges eltérésekből és más adottságokból következő Cladocera mennyiségi és minőségi változásokat. Azért választottuk vizsgálataink tárgyául az üledék Cladocera mikrofauna tagjait, mert ezen mikrofauna megismerése és feltérképezése után lehetőségünk nyílik a hajdani tavi élet rekonstrukciójára. Ez a tanulmány megpróbálja bemutatni, hogy a Balaton, mint sekély, bár jelentős vízfelülettel rendelkező tó üledékében milyen Cladocera fajok fordultak elő évekre visszamenőleg.

A Keszthelyi-öböl üledékében 22 különböző fajt találtunk, míg a Siófoki-öböl üledékében 17 faj került elő. Daphnia maradványok csak töredezetten fordultak elő mindkét mintavételi helyen. A Keszthelyi-öböl üledéke egyed és fajszámban is gazdagabb volt, mint a Siófoki-öböl üledéke.

HIDRO1-6

A Felső-Tisza-vidéki folyók szennyezettségi állapota

Katona Krisztina
V. környezettudomány
DE TTK Alkalmazott Ökológia Tanszék
témavezető: Dr. Lakatos Gyula egyetemi docens

Nyári szakmai gyakorlatomat a Felső-Tisza-vidéki Környezetvédelmi és Vízügyi Igazgatóság III. sz. Szatmári Szakaszmérnökségénél töltöttem, és ennek során kerültem kapcsolatba a témával. Munkám célja a Felső-Tisza-vidéki folyók állapotának vizsgálata, a potenciális szennyező-források rövid áttekintése, a tapasztaltak értékelése és ezekhez mérten a beavatkozási javaslatok, lehetséges megoldások számbavétele volt.

Mintavétel a következő helyeken történt:

Tiszabecs, rajzoló vízmérce (Tisza); Záhony, közúti híd (Tisza); Balsa, rév (Tisza); Kishódos, közúti híd (Túr); Csenger, közúti híd (Szamos); Tunyogmatolcs, közúti híd (Szamos); Mérk, közúti híd (Kraszna); Aranyosapáti (Tisza).

A hazánkban a felszíni vizek minősítéséhez alkalmazott MSZ 12749: 1993 szabvány által előírtaknak megfelelően a minőség jellemzéséhez 5 tulajdonságcsoporthoz vizsgálatát végeztem el, melyek a következők: az oxigénháztartás elemei, a nitrogén- és foszforháztartás jellemzői, mikrobiológiai paraméterek, mikro-szennyezők és toxicitás, egyéb jellemzők.

Az általam végzett megfigyelés a 2003. 03. – 2006. 08. időszakra terjed ki. A mérési adatokból szezonális és éves átlagokat számoltam. A kapott eredmények alapján fontos kiemelni a Kraszna és a Szamos magas szerves anyag terhelését, rossz tápanyag-háztartási viszonyait, a Szamoson nyaranta jelentkező alga-tömegprodukciónak, a Túron változó rendszerességgel levonuló, a turci bányavidékről származó cinktartalmú szennyezőhullámokat, a Tiszán megfigyelhető határon belüli vízminőség romlást, és a valamennyi vizsgált vízfolyáson jellemző rendkívüli mértékű szennyvíz-terhelést.

Fontosnak tartom, hogy a monitorozó tevékenység a jövőben is elsődleges feladat legyen, hogy konkrét mérési adatokkal és állapotminősítéssel rendelkezünk, melyek bármilyen havária esetén segítségünkre lehetnek.

A fitoplankton biomassa becslés hibái és alternatívái

Sándor Anita

V. biológus

DE TTK Hidrobiológia Tanszék

témavezetők: Dr. Nagy Sándor Alex egyetemi docens

Dr. Borics Gábor biológus

A fitoplankton biomasszájának becslése a megfigyelt egyedeken végzett méréseken alapul. A gyakorlat az, hogy az egyes egyedeket ill. bizonyos testrészeiket geometriai formákhoz (gömb, henger, kúp, stb.) hasonlítják, s azok jellemző méreteit veszik alapul a térfogatszámítások során. Az algák azonban nem tökéletes testekből épülnek föl.

Munkám célja:

1. a hagyományos módon végzett fitoplankton biomassa becslés hibájának megadása,
2. javaslat a jelenlegi eljárásnál gyorsabb és pontosabb módszer kidolgozására.

A hagyományos módszer hibáját fitoplankton fajok ismert térfogatú makroszkopikus modelljein végzett mérésekkel becsültük. Munkám eredményeként igazolást nyert, hogy a hagyományos térfogatbecslés során már az egyszerű alakok esetén is legalább 10%-os, a bonyolultabb alakoknál akár 80%-os hibát is vétethetünk. Ezen módszer ellen szól az is, hogy idő és munkaigényes, hiszen néhány forma esetén akár 10 mérést is el kell végezni egyetlen egyeden.

Zooplankton fajoknál régóta ismert az a módszer, amikor a testtömeget valamely lineáris testmérték és a térfogat közötti ismert összefüggés segítségével adják meg. Ennek megfelelően a makroszkopikus modelleken (ill. a modellek képén) kiválasztottuk a test egy bizonyos jól mérhető részét, azt lemértük, majd ennek és a térfogatnak az ismeretében megadtuk azt a formulát, mellyel az adott alakzat térfogata a későbbiekben számolható. Amennyiben valamennyi létező alga alaknak elkészítenénk a modelljét, és azt képi formában rögzítenénk, lehetőség nyílna arra, hogy a munkáját végző algológus egy képkönyvtárból válassza ki a mikroszkópban látott algának megfelelő terehető alakot, s a jellemző hossz lemerését követően az alakhoz rendelt formulával számítsa ki a biomasszáit.

Kérdés azonban, hogy milyen mértékben képes a mérést végző személy kiválasztani a katalógusból a legmegfelelőbb ábrát. Az 5, 10, 15, 20, 25, 50 – különböző nagyságú – euglenoid alakot tartalmazó tesztlapokon végzett alakfelismerés vizsgálatok eredményei alapján elmondható, hogy kellő számú átmenet esetén – mikor is az egymás melletti alakok közötti térfogat különbség 5-15% – az alternatívaként javasolt alak katalógusból történő becslés csupán 15-25% hibával terhelt, ellenben egyetlen mérésen alapul, így használata összehasonlíthatatlanul gyorsabb, mint a hagyományos eljárásé.

HIDRO1-8

A Zagyva folyó és a rajta létesített Maconkai-víztározó biológiai monitorozása a zooplankton állomány összetétele segítségével

Tajthy Dóra

VI. környezetmérnök

SZIE MKK Trópusi és Szubtrópusi Mezőgazdasági Tanszék

témavezetők: Dr. Pekli József egyetemi docens

Dr. Zsuga Katalin tudományos főmunkatárs

A víz a mindennapi életünk lételeme, mivel megfelelő mennyiségi, minőségi jelenléte alapvető fontosságú magához az élethez. Az Európai Unió Víz Keretirányelve óta a vizek minősítésében egyre nagyobb hangsúlyt kap a biológiai vízminősítés, amelynek fontos mutatói közé tartozik a zooplankton képző élőlény együttes is. A dolgozat ezek közül a Rotatoria, a Cladocera, illetve a Copepoda állomány mennyiségi és minőségi változásaival foglalkozik. A tanulmány célja, hogy ezen élőlénycsoportok összetétele segítségével képet kapjunk a Zagyva folyó és a Maconkai víztározó jelenlegi állapotáról, feltárjuk a vizsgált vízterek vízminőségi hasonlóságait, különbségeit.

A hazai vízminőség-védelem helyzetének vizsgálatára az egyik legjobb modellterület a Zagyva vízgyűjtője, mivel a vízgyűjtő terület csaknem teljes hányada Magyarországhoz tartozik, ahol változatosak az éghajlati, domborzati, talajtani adottságok, valamint változatos a folyó menti település-hálózat. A vízgyűjtő északi részén (Tarna mente) egyes nehézipari ágazatok (bányászat, kohászat), míg a középső szakaszon jelentős élelmiszeripari üzemek voltak, melyek mára már csak részben működnek. A folyón létesített Maconkai víztározó a természetközeli horgászturizmus és a versenysport szempontjából egy kiemelkedő terület. A tározó tápláló- és egyben elvezető vízfolyása a Zagyva, így a folyó biológiai állapotának értékeléséhez mindkét víztér felmérése szükséges.

A vizsgáltak egy féléves időszakot ölelnek fel kétheti, ill. havi mintavételi gyakorisággal. A vizsgálat három élőlény csoportgyűjtési és feldolgozási módja azonos volt. A helyszínen 25-50 liter vízminta átszűrésére került sor 50 µm lyukbőségű planktonhálósval. Az így tömörített minták a helyszínen formalinnal lettek tartósítva, majd laboratóriumban mikroszkóp segítségével megtörtént a mennyiségi, minőségi feldolgozás. A vízminőségre vonatkozó következtetésekre a fajok indikátor szerepének, valamint a dominancia és a diverzitás viszonyoknak a figyelembevételével került sor. A dolgozat tartalmazza továbbá az ezen időszakra vonatkozó vízkémiai adatokkal való összehasonlítást.

Balaton bentikus algák fotoszintézisének vizsgálata egyedi tervezésű inkubáló berendezésben

Üveges Viktória

V. környezettudomány

PE MK Analitikai-, Környezettudományi- és Limnológiai Intézet

témavezetők: Dr. Kovács Attila tudományos munkatárs

Dr. Padisák Judit egyetemi tanár

A sekély tavi rendszerek működésének megértéséhez különösen fontos, hogy ismerjük az üledék felszínét borító algák biomasszáját, produkcióját, az ezeket szabályzó tényezőket, s azok hatásmechanizmusait is, mivel a bentikus algák elsődleges termelőkként és táplálékforrásként is fontos szerepet játszanak a tápanyagforgalomban.

A Balatonban bekövetkezett oligotrofizálódás következtében megnőtt a fitobentosz szerepe, ezért célunk volt a bentikus algák fotoszintézisének fény és hőmérséklet függésének meghatározása.

A laboratóriumi mérésekhez készíteni kellett egy új berendezést, ami kiküszöböli a korábban alkalmazott fotoszintetron és inkubáló hátrányait. A méréseket 9 fényintenzitáson ($0-1400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) végeztük. A mérések után meghatároztuk a fotoszintetikus paramétereket, amivel lehetővé válik egyéb változók ismeretében (globálsugárzás, vertikális extinkciós koefficiens) a fitobentosz primer produkciójának területarányos becslése, a bentikus algák balatoni anyagforgalomban való részesedésének megállapítása.

A mintákat 2006 nyarán a Balaton 5 keresztsszelvénye mentén, a déli és tóközépi részekről gyűjtöttük. Mértük a klorofill-a és feopigment tartalmat savazásos módszerrel, fluoreszcens spektrofotométer segítségével. A fotoszintetikus aktivitás meghatározásához ^{14}C felvétel és a lumineszcenciás (optikai) oldott oxigén mérést (LDO) alkalmaztuk. A fitobentosz szénfelvétele és a fényintenzitás közötti kapcsolatot WEBB és munkatársai (1974) modellje alapján jellemeztük.

A fitobentosz mennyisége csökken a déli parttól a tóközépi részek felé haladva, melynek fő oka az üledék felszínére jutó, csökkenő fény mennyiség. A feopigment/klorofill-a hányados szintén a fényviszonyok függvénye. Tóközépi területeken nagyobb a feopigment/klorofill-a arány, mint déli részeken. Kelet-nyugati irányban is megfigyelhető a hányados értékének növekedése.

A fitobentosz szuszpenzió oxigén koncentrációjának változása LDO módszerrel jól mérhető volt déli részekről származó, nagyobb klorofill tartalmú minták esetén, azonban a tóközépről származó mintáknál az oxigén módszer nem adott értékelhető eredményt. Ezért a tóközépről gyűjtött mintáknál a mérősorozatokat az érzékenyebb ^{14}C felvétel mérésén alapuló módszerrel folytattuk. Az LDO és az izotópos módszer eredményei összevethetők, köztük erős pozitív korreláció van.

A területarányos fotoszintetikus aktivitás észak-déli és kelet-nyugati irányú változása a klorofill-a koncentrációval van szoros összefüggésben.

HIDRO1-10

Az eukarióta és prokarióta pikoplankton fotoszintézisének összehasonlító vizsgálata

Vanyovszki József

III. biológus

BBTE BGK Kísérleti Biológia Tanszék

Témavezetők: Dr. Vörös Lajos tudományos kutató

Dr. Fodorpataki László egyetemi docens

Tengerek és édesvizek többségében a pikoplankton állományának túlnyomó hányadát a cianobaktériumok teszik ki, emellett előfordulnak eukarióta organizmusok is, de mennyiségük rendszerint lényegesen kisebb. A pikoeukarióta csoport tagjairól mindmáig keveset tudunk, ámbar egyes szerzők szerint tengeri területeken az elsődleges szerves anyag termelés jelentős hányadáért ez a csoport felelős a pikoplankton frakción belül. A pikoeukarióták és cianobaktériumok jellegzetes évszakos dinamikájának okai még nem ismertek, ezért meghatároztuk és összehasonlítottuk a Duna-Tisza közti szikes tavakból izolált eukarióta és prokarióta pikoalga törzsek fotoszintézisét különböző hőmérsékleti és fényviszonyok között. Fotoszintetronban mértük az egyes törzsek fotoszintézisét O_2 módszerrel. A mérések alapján meghatározott empirikus függvények megadták az egyes törzsek P-I görbéinek paramétereit (P_{max} , I_k és α értékek). A kapott eltérések megmagyarázzák a természetben észlelt szezonális dinamika eltéréseit.

HIDROBIOLÓGIA, HIDROÖKOLÓGIA 2. TAGOZAT

HIDRO2-1

Balaton környéki kisvízfolyások szitakötő-faunája

Barnucz Erika

V. biológus

DE TTK Hidrobiológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Dévai György egyetemi tanár

Móra Arnold tudományos segédmunkatárs

Vizsgálataink során az MTA Balatoni Limnológiai Kutatóintézetével közösen Balaton környéki kisvízfolyások makroszkópikus vízi gerinctelen- és halfaunájának előzetes felmérését végeztük. Ennek egyik résztémája a szitakötők faunisztikai vizsgálata. A mintavételek 2006-ban, három időszakban zajlottak. A tavaszi mintavételekre május eleje és június eleje között, a nyári mintavételekre augusztusban, az ősziekre pedig októberben került sor. Összesen 38 mintavételi helyről, 20 kisvízfolyásból gyűjtöttünk szitakötőket. A gyűjtőhelyek közül 10 az északi parton, 10 a déli parton található. A minták feldolgozása során a szitakötőkre vonatkozóan összesen 278 egyedet, ebből 270 lárvát, 7 exuviumot és 1 imágót azonosítottunk (lehetőség szerint faji szintig). Összesen 14 Zygoptera és 13 Anisoptera taxon került elő. Az egyes mintavételi helyek csoportosítását fajok jelenléte/hiánya alapján hierarchikus klaszter analízissel végeztük.

Balatoni befolyók halbiológiai vizsgálata

Bereczki Csaba

V. biológus-ökológus

DE TTK Hidrobiológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Nagy Sándor Alex tanszékvezető egyetemi docens

Takács Péter tudományos segédmunkatárs

A vízi életközösségek egyik jelentős csoportját a halak alkotják. Állományaik összetétele, vagy egyáltalán jelenlétük, illetve hiányuk egy bizonyos víztér állapotát is jól jellemzi. Az utóbbi években felgyorsult a humán hatás következtében a természetes élőhelyeik degradációja. A humán behatások a kisvizek élőlényközösségeit, azok kis méreténél fogva nagymértékben átalakíthatják, károsíthatják. Ennek ellenére kevés magyarországi publikáció foglalkozik a témával.

A Balatoni Limnológiai Kutatóintézetével közösen 2006. év tavaszán, nyarán és őszén átfogó halfaunisztikai és halbiológiai kutatásokba kezdtünk a Balatonba befolyó kisvízfolyásokon.

A dolgozatban bemutatjuk a vizsgálsorozat részletes faunisztikai eredményeit. A fogási adatok alapján megvizsgáltuk az állóvizek fajkészletmódosító hatását. A faunisztikai vizsgálatok mellett a jellegzetesen és tömegesen előforduló halfajok állományainak morfometriai vizsgálatára is sor került, hiszen a humán hatások következtében megváltozott környezetben változhat az állományok egyedeinek testalakja. A vizsgálsorozat ezen része elővizsgálatként szolgálhat jövőbeni genetikai vizsgálatokhoz.

Végül a három jellegzetesen és tömegesen előforduló halfaj testhossz-testtömeg összefüggéseit is megvizsgáltuk. Ennek vizsgálatával arra kerestünk választ, hogy megfelelő élőhelyet nyújtanak-e az egyes vízfolyás szakaszok a vizsgált fajok állományai számára, illetve a halastavak közelsége befolyásolja-e a növekedést.

HIDRO2-3

A széles tavicsíkbogár (*Graphoderus bilineatus* DeGeer, 1774) faunisztikai vizsgálata, előfordulási sajátosságai és természetvédelmi helyzete Magyarországon

Gulyás András és Ács Péter

V. biológus

DE TTK Hidrobiológiai Tanszék

témavezető: Dr. Csabai Zoltán egyetemi adjunktus

konzulens: Dr. Nagy Sándor Alex vezető egyetemi docens

Vizsgálatunk az Európa szerte védett, Vörös könyves, Berni Egyezményhez tartozó *Graphoderus bilineatus* hazai előfordulásának feltérképezésére irányult. Felmérésünket korábbi előfordulási adatok és a faj életmódbeli sajátosságainak alapján a rakamazi és a tiszaberceli hullámtér fél hektárnál nagyobb vízterületeiben végeztük. Több szempont egyidejű figyelembevételével mintavételi módszerünknek a palackcsapdázást választottuk. A műanyagpalackokból készített varszerű csapdákat 3X3-as elrendezésben helyeztük el 90 mintavételi helyen. A terepi munkák 2006. júl. 1. hetében és szept. 3. hetében zajlottak. A nyári mintavétel során 134 széles tavicsíkbogarat fogtunk. A hasonló méretű és életmódú csíkbogarak közül további 5 faj került elő, melyek közül csak egy volt jelen nagyobb egyedszámban a *Graphoderus bilineatus*-nál. Az őszi mintavétel során nem találtuk meg a fajt a kérdéses területen. Eredményeink alapján megállapíthatjuk, hogy a tiszaberceli hullámtéren a faj viszonylag stabil populáció(k)val rendelkezik, a rakamazi hullámtéren esetleges az előfordulása, mely összefüggésben lehet a 2005 őszén ezen a területen végzett mederkotrással. Korábbi adatok, előfordulási helyek alapján feltételezzük, hogy a faj kedveli az időszakos elöntést, áradást. Ezt látszanak alátámasztani a mi eredményeink is, természetesen az árvíz előfordulásra gyakorolt konkrét hatását csak hosszabb megfigyeléssel lehet megállapítani. A jövőben fontosnak tartjuk a részletes hazai előfordulás és az egyes élőhelyeken belüli valamint élőhelyek közötti mozgásmintázatok feltérképezését, melyet fogás-jelölés-visszafogás módszerrel kívánunk végrehajtani. Továbbá alapvető populációszerkezeti és populációdinamikai felmérések szükségesek, hogy a meglévő populációk megőrzésére és az előfordulási területek kezelésére meg lehessen tenni a szükséges lépéseket.

**Halállományok mennyiségi viszonyai, struktúrája és elterjedése sekélyvízi
ökoszisztémákban**

György Ágnes Irma

környezettudomány (2006)

PE MK Analitikai-, Környezettudományi- és Limnológiai Intézet

témavezetők: Dr. Padisák Judit egyetemi tanár

Dr. Tátrai István tudományos főmunkatárs

A halgazdálkodást érintő ún. ökológiai rehabilitáció megalapozásához mindenek előtt a halközösségek egyedszámának, a méretgyakoriság eloszlásának, a fajösszetétel és a biomassa pontos ismerete szükséges. Sekély vizekben a halállományok mennyiségi mérésében sok a bizonytalanság. Kutatásaink 2004. és 2005. év folyamán az eltérő kiterjedésű, strukturátságú és hasznosítású vizes élőhelyek halpopulációinak diverzitás változására, állományainak strukturális és mennyiségi feltárására irányultak. Hidroakusztikus halállomány-felmérést végeztünk a Balatonban, a Kis-Balaton Tározó a Hídvégi-taván és a Major-tóban, valamint a Tihanyi-félszigeten található Belső-tavon. Simrad EK60 típusú (Simrad Co., Norvégia), elliptikus, osztott hangsugarú hangradarral mértük a halállományok mennyiségi viszonyait. Az akusztikusan fellelt hal méretfrekvenciáját és egyedszámát Sonar-4-Pro szoftverrel becsültük. A halállományok biomasszáját a mért egyedszám és a domináns fajokra vonatkozó testhossz vs tömeg regressziók alapján határoztuk meg. Párhuzamosan, multipaneles kopoltyúhálójával mértük a halközösségek faji összetételét, méreteloszlását, valamint a standardizált CPUE (Catch Per Unit Effort – egységnyi ráfordításra eső fogás) - egyedszámot és CPUE-biomasszáját. Az egyedszámban és a biomasszában az egyes vizek között különbség volt. A vizsgált élőhelyeken a halfauna összetétele is eltért egymástól. Becslésünk szerint az átlagos halsűrűség a Balaton egészére vonatkoztatva 5730 ± 2517 ind/ha volt. A halbiomassa a Balatonban a trofitásnak megfelelően változott ($157,2 \pm 105,4$ kg/ha). Méréseink során megállapítottuk, hogy a Kis-Balaton Tározó vizsgált vizeit hallal túlnépesítették (átl. 30000-40000 ind/ha) ez alól csak a Major-tó kivétel (átl. 2300 ind/ha). A tihanyi Belső-tavon az akusztikus halsűrűség igen magas volt (14052 ± 3112 ind/ha), pillanatnyi biomasszája intenzív halastó biomasszájára emlékeztet, és eléri az 530 kg/ha-t. A fiatal korcsoportok egyedszáma nagyon alacsony, amely gátolhatja a tápláléklánc hatékony működését.

Eredményeink alapján megalapozhatjuk az irányítás számára a vizsgált ökoszisztémák természetes halközösségeinek rehabilitációjára vonatkozó döntéseket.

HIDRO2-5

Makrogerinctelenek és medermorfológia vizsgálata az Ablánc-patakon

Juhász István

V. környezetmérnök

NyME EMK Erdőfeltárási és Vízgazdálkodási Intézeti Tanszék

konzulensek: Dr. Kucsara Mihály egyetemi docens

Dr. Traser György egyetemi docens

Dolgozatomban az Ablánc-patakon végzett makro- és mikromorfológiai vizsgálataimat írtam le, a vizsgáltak eredményeit a patakban található makrogerinctelenek szempontjából értékeltem.

Célom a patak morfológiájának és makrogerinctelen faunájának megismerése volt, valamint a köztük lévő kapcsolatok feltárása.

A patakon három hasonló jellegű mintaterületet jelöltem ki, ahol a hidromorfológiai vizsgálatokat végeztem. Felvettem a keresztshelvényeket és vízsebességet mértem, ezek mellett végeztem mederanyag összetétel vizsgálatot és néhány vízminőségi paraméteret is mértem. A makromorfológiai értékelést térinformatikai programmal végeztem. A makrogerincteleneket havi gyakorisággal mintáztam májustól októberig, saját készítésű hálójával a három mintaterületen.

Értékeltem a kapott hidromorfológiai jellemzőket és a begyűjtött makrogerincteleneket. A látszólag nagyon hasonló élőhelyeken, voltak olyan fajok melyek a kisebb élőhelyi különbségekre nem voltak érzékenyek, mert mindenhol megtaláltam őket, például a Gammaridae család két faja. Jól elkülönült a harmadik mintaterület a többitől a kevesebb megtalált taxonnal, ezt a patak medrének élőhely szegénységével és a környéken található szennyező forrásokkal tudtam magyarázni. A másik két mintaterületen szinte mindig hasonló fajokat találtam, mert a két terület élőhely kínálata hasonlóan gazdag. Viszont bebizonyosodott, hogy a második helyszín nagyobb fajgazdagságát a kedvező élőhely kínálatok mellett két antropogén tényező, a vegetáció hiánya valamint a malomgát hidraulikai szerepe alakította ki.

Sikerült megtalálnom ezen az első két területen az őshonos *Astacus astacus*-t, ezt a fajt Vas megye vízfolyásainak nagy részéből kiszorította egy másik faj, és az általa terjesztett rákpestis. Ennek a fajnak nagy szüksége van az ilyen élőhelyekre, hiszen a többszöri kipusztulási hullámok idején az ilyen élőhelyek jelenthették a menedéket ennek a fajnak.

Fontosnak tartom a kisvízfolyások makrogerinctelen vizsgálatát, mert sok értékes fajt találhatunk meg bennük, melyek indikálhatják számunkra a vízminőség állapota mellett az élőhely kínálatot is.

Újabb adatok a dél-nyírségi kisvízfolyások szitakötő-faunájához (Odonata)

Kalmár Attila

V. biológus-ökológus

DE TTK Hidrobiológiai Tanszék

témavezető: Dr. Dévai György egyetemi tanár

Dolgozatom témája a Debrecentől keletre fekvő, jórészt a Hajdúsági Tájvédelmi Körzethez tartozó területeket magába foglaló, 10x10 km nagyságú ET 56 UTM kisvízfolyásainak szitakötő fauna alapján végzett felmérése az ET 56 UTM hálózmezőben. 1989-ben a Debrecentől keletre fekvő ET 56 UTM 10x10 km-es hálózmezőben, a szitakötők teljes repülési időszakára kiterjedő odonológiai vizsgálat készült, melyről 2005-ben a Hidrológiai Közlönyben jelent meg cikk. (Prill Éva – Dévai György – Miskolczi Margit – Tóthmérész Béla – Olajos Péter (2005): A szitakötő-fauna (Odonata) összetétele és változatossága dél-nyírségi kisvízfolyásokban). A vizsgálat fő célja, a közel 20 év alatt történt változások meghatározása, valamint az eredmények összehasonlítása.

A vizsgálat fontosságát az élőhelyek speciális habitusa adja, mert az erekben és csermelyekben az állóvizet, illetve a lassan folyó vizeket benépesítő fajok egyaránt előfordulnak, és a terület legfajgazdagabb biotópjainak tekinthetők. Továbbá a szitakötők, mint a makroszkópikus gerinctelen fauna fontos taxonja, nagy jelentőségűek az ökológiai vízminőségi állapot EU Víz Keretirányelv szerinti megítélésben, s struktúrindikátor jellegük miatt a természetvédelmi értékség megállapításában is. A terület természetközeli állapota miatt több figyelmet és védelmet érdemelne manapság, amit az itt előforduló számos védett faj jelenléte is alátámaszt.

2006-ban a szitakötő imágók majdnem teljes repülési időszakát átfogó felmérés során, 20 kisvízfolyás 44 mintavételi helyén történtek vizsgálatok. A felmérési helyek teljesen azonosak voltak a már korábban említett cikkben szereplő mintavételi helyekkel.

2006-ban 33 faj került elő, melyből 7 bizonyult gyakoribbnak, 15 ritkábbnak és 11 faj esetén nem történt változás és 1 új, korábban nem regisztrált faj is előkerült a 1989-es vizsgálat adataival összehasonlítva.

HIDRO2-7

Hazai átfogó odonitológiai honlap kialakítása

Kalmár Attila

V. biológus-ökológus

DE TTK Hidrobiológiai Tanszék

témavezető: Dr. Dévai György, egyetemi tanár

kozulensek: Dr. Ambrus András

Olajos Péter

A diplomamunka kutatásaim megkezdésekor az előzetes irodalom és adatgyűjtés során tapasztaltam, hogy az Odonata (Szitakötők) rendjével kapcsolatban a magyar nyelvű szakirodalom nagy hiányosságokat mutat. Megoldás lehetne a külföldi irodalom, mely jóval frissebb és kidolgozottabb tartalommal bír, mint a hazai, bár nehezebben hozzáférhető. Áthidaló megoldásként ma már szerencsére rendelkezésre áll az internet, mint szinte végtelen információtár, amely a legtöbb tudományos témát illetően is hasznos segítség lehet. A hazai honlapok esetében is tapasztalható azonban az elmaradottság a külföldi weblapokhoz képest.

Mivel a magyar vízi-rovarkutatást tekintve a hazai internetes adatbázisok hiányosak, ezért célomul tűztem ki, hogy beszerzem a szükséges irodalmakat, valamint anyagokat, és létrehozok egy ingyenesen látogatható webfelületet, amely tartalmazza a hazai szitakötőfajok meghatározásához szükséges információkat.

Kialakítottam egy olyan internetes adattárat, amely tartalmazza a magyarországi szitakötő-fauna fajainak általános leírását (mind európai, mind hazai vonatkozásában), ezen kívül hazai elterjedési térképeket, nagymennyiségű képanyagot és publikációkat.

A honlapot 2006. márciusában hoztam létre, azóta több kutató, természetfotós jelezte már elismerését.

Vízi- és vízfelszíni-poloskák (Heteroptera: Nepomorpha, Gerromorpha) diszperziójának napszakos és évszakos dinamikája (2000, 2005)

Kecső Klára és Kovács Enikő

V. biológus; V. biológia-környezettan

DE TTK Hidrobiológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Nagy Sándor Alex egyetemi docens

Boda Pál PhD hallgató

konzulens: Dr. Csabai Zoltán egyetemi adjunktus

Minden természetszerető ember tudja, hogy bizonyos időszakokban a vízirovarok tömegesen vannak jelen a levegőben. A vízirovarok diszperzióját általában fénycsapdával vizsgálták. Csabai és munkatársai 2000-ben egy, a rovarok polarotaktikus érzékelését kihasználó, új metodikával csapdázták a poloskákat. Az ő kutatásaikból kiindulva a vándorló rovarokat három darab, 9×3 méteres fekete fólián csapdáztuk, minden héten 24 órán keresztül és mértük a környezeti tényezők éppen aktuális értékeit. Mintavételi helyünket a Hortobágyi Nemzeti Park területén lévő Hagymás-lapos (Tiszafüred) mellett jelöltük ki. Dolgozatunkban jellemeztük a vízi- és vízfelszíni-poloskák vándorlásának időbeli sajátosságait és meghatározzuk a napszakos és évszakos vándorlási mintázatokat, és eredményeinket összevetettük Csabai és munkatársai által 2000-ben elvégzett kutatás eredményeivel. Továbbá megvizsgáltuk a vándorlásra hatóképesnek minősíthető környezeti tényezőket és megpróbáltunk következtetést levonni azok diszperziót befolyásoló hatását illetően.

A 2000-es évben végzett elővizsgálatok során összesen 7 taxonba tartozó 1383 poloska, míg 2005-ben szintén hét taxonba tartozó 5043 egyedet gyűjtöttünk be és identifikáltunk. Eredményeink az alábbiakban foglalhatók össze: Alapadatokat szolgáltatunk a vízi- és vízfelszíni-poloskák vándorlási szokásainak és a kisvizek kolonizációjának későbbi átfogó vizsgálatához. Leírtuk a vizsgálataink során legnagyobb példányszámban vándorló *Sigara lateralis*, *Sigara striata*, *Sigara falleni*, *Hesperocorixa linnaei* fajok vándorlásának éves és napszakos alakulását, valamint a *Plea minutissima* faj vándorlásával kapcsolatban megfogalmaztuk sejtéseinket. Megállapítottuk, hogy a *Sigara lateralis*, *Sigara striata*, *Sigara falleni*, *Hesperocorixa linnaei* fajok évszakos vándorlási maximuma 2000-ben május és június hónapokra tehető, míg 2005-ben a tömeges diszperzió három héttel eltolódott, így június és július hónapokra tehető. Adataink alapján a vízipoloskák napszakos diszperziós ritmusában 2000-ben egy (esti), míg 2005-ben kettő (egy esti és egy hajnali órára tehető) vándorlási maximum figyelhető meg. Megállapítottuk, hogy a környezeti tényezők megakadályozhatják, és jelentősen befolyásolhatják a vándorlási mintázatokat, de alapvetően nem ezek a környezeti faktorok határozzák meg a vándorlás napszakos dinamikáját.

HIDRO2-9

**Az árvaszúnyog lárvák tér-időbeli eloszlása és mennyiségi viszonyai
a Kis-Balaton Tározó I-es ütemén**

Kucserka Tamás

III. környezettudomány

PE MK Analitikai-, Környezettudományi és Limnológiai Intézet

témavezetők: Dr. Tátrai István

Dr. Padisák Judit

A Kis-Balaton tározó I-es ütemén a sekély, eutróf, kizárólag horgászati célra használt Major tóban (11 ha) 2005 folyamán vizsgáltuk a makrozoobentosz populáció-dinamikáját, mennyiségi viszonyainak tér és időbeli változását, figyelembe véve a halállományok hatását. Vizsgáltuk továbbá a domináns csoport (*Chironomus* sp.) méreteloszlását, a fejkapszula szélessége és a lárvahossz közötti összefüggést, valamint a lárvák és az algabiomassza közötti kapcsolatot. A makrozoobentosz egyedszáma és biomasszája szignifikánsan nem különbözött a vizsgált élőhelyek között. Míg az egyedszám mind a nyíltvízi, mind pedig a parti sávban alacsony maradt ($400-800 \text{ ind m}^{-2}$), addig a biomassza magas volt és nagyságrendnyi határok között ($4-12 \text{ g (nedves súly) m}^{-2}$), szezonálisan változott. Megállapítottuk, hogy a halállományok lényegesen nem befolyásolták a makrobentosz populáció-dinamikáját: a zoobentosz biomasszája ugyanis szezonálisan, a halállományok mennyiségének megfelelően, változott. Nyáron, magasabb halbiomassza mellett, magasabb makrozoobentosz biomasszát mértünk, mint ősszel alacsonyabb halbiomassza mellett. A makrobentosz egyedszáma és biomasszája jelentős mértékben csak ősszel csökkent akkor, amikor a halállományok hozamai is minimumot mutattak. Az árvaszúnyog lárvák hossz- és tömeggyarapodása az eutróf vizekre jellemző mértékű volt mind a nyíltvízben, mind a parti sávban. A klasszifikációnak megfelelően az árvaszúnyog lárvák négy generációját találtuk meg a tóban. A lárvák > 90 %-a az utolsó, IV., bábozódás előtti fejlődési stádiumban volt. Megállapítottuk, hogy a Major tóban az árvaszúnyog lárvák feltehetően nem alga, hanem hínár eredetű detritusszal táplálkoznak.

HIDRO2-10

Egy kisvízfolyás alapvízhozam változásai

Kukléta Károly

III. természetvédelmi mérnök

NyME EMK Erdőfeltárási és Vízgazdálkodási Intézeti Tanszék

témavezető: Dr. Gribovszki Zoltán egyetemi docens

Kalicz Péter egyetemi adjunktus

A víz ma is az élet egyik feltétele, ezért vizeink minőségével, állapotával, mennyiségével, utánpótlásával folyamatosan foglalkozni kell.

A TDK dolgozatom egy a nemzetközi szinten is egyre inkább az érdeklődés középpontjába kerülő témával, a vízfolyások felszín alatti vízutánpótlásával és a vegetáció kapcsolatával foglalkozik. Vizsgálataim során ezen kapcsolatrendszer és ennek dinamikáját kívánom számszerű adatokkal jellemezni.

A kutatás közel másfél éve a Sopronhoz közeli Rák-patak felső szakaszán folyik. Ezen a szakaszon rendszeresen több kutatásra kiterjedő adatgyűjtés folyik. A fent megnevezett témához legfőképpen a vízfolyás egyes szakaszain mért vízhozam, vezetőképesség, hőmérséklet, adatokra van szükség.

A feldolgozott adatokból következtetni lehet a kisvízfolyás mellett elhelyezkedő vegetáció vízfelhasználására, amely intenzitása fajtától, kortól, évszaktól, különböző mértékben függ.

A vizsgálatok továbbá kiterjednek a patak szakasz és annak vízutánpótlásáért felelős felszín alatti rétegek kapcsolatának feltárására, mégpedig, hogy a vízfolyás egyes szakaszain milyen mértékű talajvíz-utánpótlás jellemző. Következtetni lehet még az alapvízhozamot befolyásoló felszín alatti, illetve felszín közeli áramlási pályákra is.

HUMÁNBOLÓGIA TAGOZAT

HUMBIOL-1

A magyar gyermekek nemi érésének jellemzői a 21. század elején

Bodnár Andrea

V. biológia-kémia

ELTE TTK Embertani Tanszék

témavezető: Dr. Bodzsár Éva egyetemi tanár

Tanulmányunkban a Második Országos Növekedésvizsgálat (Bodzsár és mtsai. 2003-2006) 10-16 éves korintervallumába tartozó gyermekek almintája alapján, arra kerestük a választ, hogy:

- (1) a szexuális érési jellemzők megjelenésének sorrendjében és idejében kimutatható-e különbség,
- (2) az eltérő szocio-ökonómiai környezetben élő gyermekek érési tempója különbözik-e.

A nemi érési jellemzők megjelenésének sorrendiségét és a szocio-ökonómiai háttér hatását a nemi érés ütemére a leányoknál a menarche, a telarche (első puberális fokozatának megjelenési ideje), a pubarche (a szeméremszőrzet első puberális fokozatának megjelenési ideje); a fiúknál az oigarche, a pubarche és a genarche (a nemi szervek első puberális fokozatának megjelenési ideje), valamint a vizsgált nemi jellegek fejlettségi stádiumainak kormediánjai alapján elemeztük. A menarchéra, ill. oigarchéra vonatkozó adatokat „status quo” módszerrel gyűjtöttük (Wilson és Sutherland 1950), a nemi jellegek fejlettségi stádiumainak elkülönítésére Tanner (1962) ötfokú érési skálát alkalmaztuk. A menarche, az oigarche, a telarche, a genarche, a pubarche, valamint az egyes fokozatok medián korát, a 95%-os konfidencia intervallumokkal, probitanalízis maximum-likelihood technikáját alkalmazva határoztuk meg (Weber 1969).

A vizsgálati eredményeink azt mutatják, hogy:

- (1) a leányok testi fejlettségének pubertáskori változásai két évvel korábbi kronológiai életkorban jelentkeznek, mint a fiúk esetén, de
- (2) a vizsgált nemi jellegek teljes puberális kifejlődésének időtartama a fiúknál és leányoknál megegyezik.

A szocio-ökonómiai háttér és a nemi érés üteme közötti kapcsolatvizsgálat azt mutatja, hogy hazánkban az ezredforduló tájékán felnövő gyermekek érési ütemében nincs lényeges különbség: a szociális tényezők szerint elkülönített alcsoportokhoz tartozó gyermekek menarchekor és oigarchekor értékei és az általunk vizsgált nemi jellegek (szeméremszőrzet, emlők, genitáliák) fejlettségi stádiumainak medián értékeiben nincs jelentős eltérés.

HUMBIOL-2

Egy hajdúsági mikrorégió középkori népességeinek rekonstrukciója koponyaleletek alapján

Csóri Zsuzsanna

V. biológus-ökológus

DE TTK Evolúciós Állattani és Humánbiológiai Tanszék

témavezető: Dr. Szathmáry László egyetemi docens

A Kárpát-medencében reprezentációját tekintve egyedülálló leletanyag került napvilágra Hajdúdorog környékén. Igen kis területen sikerült feltárni négy olyan bolygatatlan temetőt, amely a honfoglalás korától egészen a 13. századig öleli fel egy mikrorégió népességének történetét. Ezek a lelőhelyek a következők: Gyulás (10. század); Temetőhegy (9. század), Szállásföld (12-13. század), Katidülő (12-13. század). Feladatom az volt, hogy kraniológiai vonatkozásban megítéljem ezen négy népesség összefüggéseit, nevezetesen:

- a 10. századi Gyulás népessége továbbél-e ebben a mikrorégióban?
- a 11. századi Temetőhegy továbbélése kimutatható-e a 12-13. századi temetőkben?
- Katidülő népessége milyen kapcsolatban állhatott az azonos korú Szállásföldével?

Első vizsgálatom a népességek struktúrájára és összefüggéseire irányult. Az egyes mintákat a kiemelt főkomponensek átlagos értékei alapján Euklideszi távolság szerinti csoportátlag (UPGMA) eljárással rendszereztem. A klaszterfát mindkét nemben elsősorban 1,6 szinten elemeztem.

A második vizsgálat az egyes lelőhelyek mintáinak továbbélését kutatja, mely során páronkénti diszkriminancia analízist végeztem. Alapnépességnek a 10. századi Gyulás lelőhely népességét tekintve. Minden rákövetkező korra jellemző új összetevőt az átsorolatlan egyedek képezték. A továbbélőket pedig a mintapárok közötti átsorolt leletek jelentették.

Összegzésül az alábbi konklúziókat mondhatom az elvégzett két vizsgálat alapján:

Az első kérdésre, mely szerint a népességfejlődés milyen tendenciát mutat, egyértelműen válaszolhatok: szignifikánsan nem folyamatos fejlődésű. A gyulási népesség továbbélése nem jelentős.

A második kérdésre a válasz az, hogy Temetőhegy és Szállásföld népessége nagy hasonlóságot mutat; a temetkezések folyamatosak lehettek. Erre utal a két temető közelsége (kb. 500m), illetve a régészeti megfigyelések alapján kialakított feltételezés, miszerint egy 11. századi népesség a 12. századtól fogva egy templomos temetőben temetkezhetett.

A harmadik kérdésre válaszolva megállapítható, hogy Katidülő és Szállásföld népessége kis mértékben hasonlít egymásra, a két népesség közötti génáramlás csak alig feltételezhető.

A testalkat életkori változásai és nemi különbségei

Hornyák Gábor
V. biológia-kémia
ELTE TTK Embertani Tanszék
témavezető: Dr. Bodzsár Éva egyetemi tanár

A morfológiai testalkat, a szomatotípus és a növekedési típus nem egy változatlan, eleve determinált egység, hanem az életkorral, a környezeti hatásokkal és a nemi éréssel is módosuló struktúra. A következő kérdésekre keressük a választ:

1. a gyermekek testalkata hogyan változik az életkor előrehaladtával, vannak-e nemi különbségek és
2. hogyan alakulnak ki a nemre jellemző testalkati jellemzők.

A vizsgálatot Észak- és Közép Magyarország 3- 18 éves gyermekeinek mintáján végeztük el. Az adatokat a II. Országos Növekedésvizsgálat (Bodzsár, 2003-2006) során gyűjtöttük. A testméreteket a Martin-féle technikával (Martin és Saller, 1957) és az IBP/HA ajánlásainak (Tanner, 1969) megfelelően vettük föl. A testalkatot a Heath-Carter-féle szomatotípus (Heath-Carter, 1990) alapján becsültük. Az egyedi értékeket a Szmodis és munkatársai (1967) regressziós egyenleteivel számoltuk ki. A metrikus és a plasztikus indexeket Conrad módszere (Conrad, 1963) alapján számoltuk.

Vizsgálataink szerint a pubertáskor idején a gyermekek testalkata és testformája megváltozik, az eltérés a leányok esetében sokkal dominánsabban mutatkozik meg. A leányok endomorfiaja mindig kifejezettebb, mint a kronológiailag velük azonos korú fiúké. Mindkét nemnél a pubertás elején zsírvesztés, majd fokozatos zsírfelhalmozódás játszódik le. A mezomorfia a pubertáskor legkevésbé változó testalkati komponense. Az ektomorfia mindkét nemnél növekszik a pubertás idején. A fiúk testalkata a pubertás során kisebb változásokon megy keresztül. A lányok törzse kerekdedebb, mint a fiúké az egész vizsgált korintervallumban. A fiúk csont-izomrendszere minden vizsgált életkorban robusztusabb, mint a leányké.

HUMBIOL-4

**Régészeti csontmaradványok *Mycobacteriális* fertőzésének meghatározása
tömegspektrometriával**

Jámbor Éva

V. biológus

PTE ÁOK Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet

témavezető: Dr. Márk László egyetemi tanársegéd

konzulens: Dr. Csoknya Mária egyetemi tanár

Sajnálatos módon a gümőkór reneszánszát éli, multidrog rezisztens változatainak megjelenése és globális elterjedése reális fenyegetést jelent napjainkban is. A *tuberculosis* korai megjelenése a neolitikum végére tehető. Az elképzelések szerint a *Mycobacterium bovis*-sal fertőzött szarvasmarhák cseppfertőzés útján, valamint táplálékként adhatták át a kórokozókat az embereknek. Azonban ennek a feltételezésnek pontos tudományos bizonyítéka jelenleg még nem ismert. A Kárpát-medencében a *tuberculosis* bacillus jelentős terjedése a 7–8. századra tehető.

A klasszikus módszereket alkalmazva a betegség antropológiai maradványokból történő kimutatását csupán morfológiai elemzésekkel végezhetjük el. Ennek a meghatározási módszernek azonban komoly korlátot jelent, hogy csak a csontokon is megjelenő infekció kimutatására alkalmas. A *Mycobacteriumok* vastag sejtfalának köszönhetően a DNS állományuk viszonylag jól kinyerhető, de a régészeti mintákból származó mikrobiális DNS fragmentumok elemzése még napjainkban sem mondható rutinszerű eljárásnak. A hiányosságok leküzdésének másik lehetősége olyan könnyen detektálható biomarkerek kimutatása, amelyek megbízható diagnózis felállítására alkalmasak. A mycolsavak stabil, 60–90 szénatomszámú zsírsavak, melyek a mikobaktériumok sejtfalának fő alkotói. A hidrofób tulajdonságú mycolsavak kiválóan ellenállnak a természeti és mikrobiológiai hatásoknak és így jól használhatóak biomarkerként.

Munkánk során régészeti mintákra adaptált eljárást alkalmaztunk a *Mycobacterium tuberculosis* infekciók kimutatására. A mátrix-segítette lézerdeszorpciós ionizációt alkalmazó tandem repülési idő analízátoros tömegspektrometria (MALDI TOF/TOF MS) minta feldolgozási kapacitása nagyságrendekkel nagyobb, mint a folyadékkromatográfiás rendszereké, ez mellett egyszerűbb mintaelőkészítést igényel. A mycolsavak kimutatásán túl elsőként azonosítottunk ősi csontokból származó *Mycobacteriális* fehérjéket, amelyek fajspecifikus biomarkerként alkalmazhatóak. Az azonosított proteinek között megtalálható a *Mycobacterium tuberculosis* baktérium *FAS II* enzimje és a *Paratuberculosis K-10* protein, amelyek az ősi populációk változatos mikobakteriális fertőzésére utalnak.

Klórbenzolok és csontelváltozások növekvő kockázata

Ocskó Tímea és Kéri Enikő
biológia-testnevelés (2006); IV. biológia-környezetvédelem
SZTE JGYPK Biológia Tanszék
konzulensek: Dr. Gálfi Márta főiskolai tanár
Dr. Kocsis Julianna
Nagyéri György PhD hallgató

Irodalmi adatokból ismert, hogy a csonttömeg veszteséssel járó (calcipeniás) csontelváltozások száma nemcsak hazánkban, hanem az egész világon jelentősen emelkedett. Az említett csonttömeg vesztesést képviselő folyamatok kiváltásában a genetikai és/vagy patológias okok mellett a környezeti expozíciók szerepe fokozottabbá vált. A kémiai környezetterhelő ágensek közül a perzisztens, szerves szennyező (POP) anyagok csontzavarokat kiváltó hatása milligrammos dózisu és krónikus expozíciók esetén már ismert.

Jelen munkánkkal *célunk* volt, hogy a POP vegyületek környezeti hatásainak tanulmányozására modellkísérleteket állítsunk be, melyekkel az extrém alacsony dózisu, szubtoxikus klórbenzol (CIB) expozíciókat vizsgálhatjuk. Kísérleteinkben a táplálkozással megvalósuló, azaz az orális expozíciót *in vivo* CIB kezelésekkel kívántuk standardizálni azért, hogy megállapítsuk észlelhető-e statisztikailag is értékelhető hatás a csontmátrixban és/vagy a csont hisztológiai struktúrájában?

Kísérleteinkben Wistar hím patkányokat gyomorszondán át kezeltünk hexa- és triklórbenzol 1:1 arányú keverékével; 1 µg/testsúly kg/nap dózisban; 30, 60 és 90 napon keresztül. A kezeléseket követően a modellállatok testtömegét mértük, valamint vér és femur mintákat gyűjtöttünk. A szérumból meghatároztuk a májtoxicitást jelző transzferáz enzimek (GGT, SGOT, SGPT) szintjeit, a femurból készített alkalmas metszeteken morfológiailag ellenőriztük a csontszövet változásait a kezelési időtartamok függvényében. Mértük a femur mobilizálható Ca^{2+} tartalmát, és a csont ásványianyag tartalmát.

Eredményeink szerint a kialakított modell alkalmasnak bizonyult az extrém alacsony dózisu CIB expozíciók tanulmányozására. A CIB kezelések hatására a csont ásványianyag tartalma szignifikánsan csökkent, az elektromosan mobilizálható Ca^{2+} mennyisége szignifikánsan nőtt a kezelési időtartamok függvényében. Mindezzel hisztológiai vizsgálataink eredményei korreláltak, ugyanis erősen felritkult csontmátrixot detektáltunk.

Megállapíthatjuk tehát, hogy a POP ágenseket modellező CIB kezelések krónikus és szubtoxikus dózisban a csontelváltozások kockázatát szignifikánsan fokozzák.

HUMBIOL-6

Aromatáz bénítók hatásainak vizsgálata in vitro humán granulóza sejt kultúra modellen

Pallagi Petra

V. biológus

SZTE TTK Összehasonlító Élettani Tanszék

témavezető: Dr. Földesi Imre egyetemi adjunktus

konzulens: Dr. Toldi József egyetemi tanár

Az aromatáz egy enzim komplex, amely az androgének ösztrogénekké való átalakulását katalizálja. Reproaktív korban az aromatáz aktivitása a petefészekben a legnagyobb, mely a lokálisan termelt androgéneket alakítja át ösztradiollá. Menopauza után a petefészek működése erősen csökken, és a mellékvesekéregben is képződő, kis mennyiségű androgént szinte kizárólag az extragonadális szövetekben (pl. a zsír- és izomszövet, máj) található aromatáz alakítja át ösztrogénné. Kimutatták, hogy a hormonfüggő emlőrákban az ösztrogénnek tumornövekedést stimuláló hatása van, ami – tekintettel az emlő karcinómák gyakori ösztrogén- és/vagy progeszteronreceptor pozitívítására – új perspektívát nyitott az előrehaladott, posztmenopauzális mellrák aromatáz gátlóval történő endokrin kezelésében. Emellett az aromatáz bénítók használatának új indikációs területeként, napjainkban egyre gyakrabban használják őket in vitro fertilizációs kezelés premedikációjában a clomifén-citrát alternatívájaként, ideiglenes ösztrogénhiány előidézésére.

Sokáig egyetlen aromatáz gátló állt rendelkezésre, a nem-szteroid típusú aminoglutetimid, amely nem volt szelektív az aromatáz enzimre, ezért jelentős mellékhatással rendelkezett. Később megjelentek a második generációs szerek, a nem-szteroid típusú inhibitor, a fadrozol, és a szteroid típusú inaktívátor, a formestan. Ezeket követték a harmadik generációs készítmények, a nem-szteroid gátlók, az anastrozol, a letrozol és a vorozol, valamint a szteroid típusú inaktívátor, az exemestan.

Kísérleteink célja az volt, hogy bemutassuk az aromatáz gátlók közül, az aminoglutetimid, a 4-OH-androszténdion (formestan) és az anastrozol hatását a bazális és rekombináns follikulus stimuláló hormon (rFSH) által indukált szteroid termelésre humán granulóza sejt kultúra modellen. A kísérletekből kiderült, hogy a 4-OH-androszténdion hatástalan volt a bazális és rFSH indukált ösztradiol és progeszteron szintézis befolyásolásában, az aminoglutetimid nagy koncentrációban fokozta az ösztradiol szintézist, a progeszteron termelést viszont ugyanebben a tartományban gátolta. Az anastrozol idő- és dózisfüggően gátolta a granulóza-lutein sejtek ösztradiol termelését, ugyanakkor nem befolyásolta a progeszteron termelést. Az anastrozol szelektíven blokkolta a granulóza sejtek rFSH-függő ösztradiol szintézisét is.

Egy bronzkori tragédia

Pap Dorottya

V. biológus

ELTE TTK Embertani Tanszék

témavezető: Dr. Gyenis Gyula egyetemi tanár

Érd-Hosszúföldek lelőhely Budapesttől délnyugatra, a 6-os út mellett, a Benta patak mentén található. Tóth Gusztáv régész a teljes település mintegy 10%-át tárta fel 2004-ben, az előkerült leleteket a kerámiák alapján a kora- és középső bronzkorra, a Vátya-kultúrához sorolható. A bronzkorban általánosan elterjedt két temetési mód a hamvasztásos (urnás) és a korhasztásos temetkezés volt. Az eddig előkerült Vátya-kultúrához sorolt temetők az előbbihez tartoztak, ezért az ezekből előkerült csontanyag alig volt vizsgálható. Az Érd-Hosszúföldek lelőhelyen azonban egy hamvasztásos maradványt sem találtak. Előkerültek szabályos, erősen zsugorított testhelyzetben eltemetett csontvázak és olyanok is, akiket csak bedobáltak az egykori településen belül elszórtan jelentkező hulladék-, illetve élelemtároló gödrökbe. Ezért a lelőhely esetében nem is beszélhetünk hagyományos temetőről. A gödrökből 37 egyén csontjai kerültek elő, közülük csak 12 egyén volt a csontanyag töredékessége miatt vizsgálatra alkalmatlan, míg 25 egyén váza jó megtartású volt. A maradványok korát és nemét a történeti antropológiában általánosan használt módszerekkel határoztam meg. A koponyákon és a vázcsontokon a Martin-féle, hagyományosan használt méreteket vettem fel és kiszámoltam a jelzőket. Vizsgáltam továbbá a fogak állapotát, makroszkóposan megfigyeltem a kóros elváltozásokat és anatómiai variációkat is. A lelőhelyen talált csontok metrikus adatait összehasonlítottam más magyarországi és Azov-tenger melléki, a kora- és középső bronzkorból származó leletekkel. A férfiak koponyái a cromagnoid-A és nordikus jellegeket mutatnak, míg a nők dinári és alpi jellegeket mutatnak. A vázcsontok állapotából azt a következtetést vonhatjuk le, hogy már fiatal kortól erős fizikai tevékenységet végeztek, ami enthesopathiát, Schmorl-herniát, periostitist és spondylosist okozott. Az eredmények azt mutatják, hogy az Érd-Hosszúföldek lelőhelyen talált emberi maradványok jellegeik alapján jól beleillenek a korábban feltárt bronzkori lelőhelyeken feltárt leletanyagok közé. Ami a lelőhelyet különösen érdekessé teszi, az az elhantolás hevenyészett módja, ami „tragikus” eseményre is visszavezethető lehet. Erre kétféle magyarázatot tartok elfogadhatónak. Az egyik szerint járványos megbetegedés, a másik szerint pedig háborús események okozták a Vátya-kultúrától teljesen eltérő temetési módot.

HUMBIOL-8

A fizikai aktivitás hatása a testösszetételre

Vitályos Gábor Áron

V. biológia-környezettan

ELTE TTK Embertani Tanszék

témavezető: Dr. Bodzsár Éva egyetemi tanár

Vizsgálati cél. Dolgozatunkban a fizikai aktivitás testösszetételre gyakorolt hatását vizsgáljuk Kelet-, Közép-, és Észak-Magyarország prepubertás, pubertás és posztpubertás korú fiataljainak egy mintáján. Feltételezzük, hogy egyrészt a fizikai aktivitás hatására jelentős különbségeket találunk a testösszetételben, főleg a zsírtartalom tekintetében, másrészt, hogy különbségek adódnak a különböző régiókban élők között is a testösszetétel vonatkozásában, az eltérő szociális-gazdasági helyzetekből adódóan.

Anyag és módszer. A felhasznált mintánk a Második Országos Növekedésvizsgálat (Bodzsár és mtsai 2003-2006) egy almintája, amelyben 7-18 éves gyerekeket vizsgáltunk. A mintát a vizsgált régiók középiskoláiba, gimnáziumaiba és szakiskoláiba járó gyermekek képezik. A gyermekek testösszetevő komponenseit a Drinkwater-Ross (1980) négykomponensű modellel becsültük. A teljes zsírtartalom mennyiségének meghatározásához 5-5 bőrredő vastagságát vizsgáltuk úgy a törzsön, mint a végtagokon. Az egyénenkénti fizikai aktivitás végzésének mennyiségéről és mikéntjéről kérdőív segítségével tájékozódunk.

Vizsgálati eredmények. A fizikai aktivitás hatását nézzük a mindhárom fent említett korosztályra, mindkét nemre lebontva, a testösszetételre és zsírfelhalmozódásra vonatkozóan. Az így kapott csoportokat a három régió szerint is összevetettük, hogy elemezzük, hogy a három régió eltérő szociális-gazdasági helyzete milyen hatással van a gyermekek testösszetételére.

IMMUNOLÓGIA TAGOZAT

IMMUN-1

A CD84 homo-asszociáció hatása a CD40-indukálta gyulladásos citokin termelésre monocita-eredetű dendritikus sejtekben

Baráth Mónika

V. biotechnológus

DE OEC Immunológiai Intézet

témavezetők: Dr. Lányi Árpád egyetemi docens

Dr. Rajnavölgyi Éva egyetemi tanár

A CD84 sejtfelszíni receptor az immunglobulin szupergén család CD2/SLAM alcsaládjának tagja. A receptorcsalád többi tagjához hasonlóan homo-asszociációra képes, vagyis a kapcsolódó sejtekben a CD84 interakciót követően kétirányú jelátviteli folyamatok indulnak meg. Annak ellenére, hogy a CD84 receptor már a CD34⁺ csontvelői őssejtek mintegy 30%-án megjelenik és megtalálható mieloid és limfoid sejtek felszínén egyaránt, az említett sejtek differenciációjában, illetve aktivációjában betöltött szerepéről szinte semmit sem tudunk.

Célkitűzés: Munkám során a CD84 homo-asszociáció szerepét vizsgáltam humán monocita-eredetű dendritikus sejtek (DS-ek) CD40, illetve Toll-like receptor-4- (TLR4) indukálta effektor funkcióiban.

Módszerek: Receptorfehérjék funkcionális vizsgálatának egyik lehetséges módja a receptor indukciója. A SLAM család receptorainak ellenanyagok, vagy szolúbilis ligandum általi aktivációja a homo-asszociációval kiváltott aktivációval ellentétes hatású. Ezért specifikus antitestek használata helyett, a CD40 és CD84 receptorok egyidejű stimulációját DS-ekben CD40 ligandumot (CD40L) és CD84 receptort is expresszáló transzfektáns, eger fibroblaszt (L929) sejtek segítségével váltottam ki. A CD84 TLR4-közvetített szignálokra kifejtett hatását a DS-ek és CD84-et kifejező L929 sejtek LPS-sel aktivált tenyészeiben vizsgáltam. Receptorfehérjék funkcionális vizsgálatának egy másik lehetséges módja a receptor-elimináció okozta funkcióváltozások vizsgálata. A receptor hiányában bekövetkező funkcióváltozások vizsgálatára az RNS interferenciát választottam.

Eredmények: (1) Kimutattam, hogy a CD84 interakció jelentősen csökkenti a DS-ek CD40-indukálta IL-12, TNF- α , IL-6 és IL-10 termelését. (2) A CD40L és CD84 által egyidejűleg stimulált DS-ek csökkent Th1 polarizáló képességgel rendelkeznek, de indukálják az allogén, naív CD4⁺ T-sejtek expanszióját. (3) A CD84 homo-asszociáció nem gátolja a DS-ek TLR4-indukálta citokintermelését, ami arra utal, hogy a bakteriális fertőzés hatására kialakuló gyulladásos reakció CD84 receptor jelenlétében is kiváltható. (4) A CD84-specifikus shRNS-t expresszáló lentivírus preparátumok alkalmasak lehetnek a CD84 DS-differenciációban betöltött szerepének tisztázására.

A humán galektin-1 által indukált T-sejt apoptózis koncentráció-függő mechanizmusának vizsgálata

Bliskó Andrea

V. biológus

SZTE TTK Biokémiai Tanszék

témavezető: Dr. Monostori Éva, tudományos főmunkatárs

konzulens: Dr. Hermes Edit egyetemi adjunktus

A galektin-1 (Gal-1) gyulladáscsökkentő hatású endogén lektin, az éretlen timociták, az aktivált T sejtek és tumoros T-sejt vonalak apoptózisát okozza. Ennek a folyamatnak a molekuláris mechanizmusáról számos tanulmányt közöltek, amelyek részben feltárták az egyes lépéseket, de sok ellentétes adatot tartalmaznak. Feltételezésünk szerint ez abból adódik, hogy a különböző munkacsoportok eltérő kísérleti körülményeket alkalmaznak. Munkacsoportunk előzőleg kimutatta, hogy a Gal-1 p56^{lck}/ZAP70 tirozin kinázok aktiválódásával és tirozin foszforilációval járó jelátviteli utat indukál a Jurkat T sejtekben, ceramid szabadul fel, ezt követően csökken a mitokondriális membránpotenciál, majd aktiválódnak az iniciátor és effektor kaspázok, végül a sejtek elpusztulnak. Az általunk használt Gal-1 koncentráció 1,8 μ M, ellentétben a mások által alkalmazott 10-20 μ M-lal.

Munkámban a különböző koncentrációban alkalmazott Gal-1 indukálta apoptózis lépéseit hasonlítottam össze. Az apoptózis különböző szakaszait áramlási citometriával követtem nyomon: a foszfatidil-szerin külső membránrétegbe való fordulását AnnexinV-FITC-el vizsgáltam, a mitokondriális membrán potenciál csökkenését az erre érzékeny MitoTrackerRed festékkel detektáltam, a sejtek csökkent DNS-tartalmát propidium-jodiddal mutattam ki.

A Gal-1 mindkét alkalmazott koncentrációban kiváltotta az apoptotikus folyamatok ezen általános eseményeit (foszfatidil-szerin expozíció, mitokondriális membrán potenciál csökkenés, DNS-fragmentáció), de eltérő kinetikával. Az alacsony koncentrációban adott Gal-1-gyel szemben: 1/ a magas koncentrációban jóval gyorsabban zajlik le a sejthalál; 2/ nem függ a jelátviteli fehérjék tirozin foszforilációjától, az Lck és ZAP70 jelenlététől, 3/ nem függ a kaspáz aktivációtól.

Eredményeink azt mutatják, hogy a Gal-1 más mechanizmussal és feltételezhetően más receptoron keresztül fejti ki a hatását, ha alacsonyabb, illetve magasabb koncentrációban van jelen. Minthogy a Gal-1 koncentrációja szövetenként más és más lehet, ez az apoptotikus jel finom szabályozását jelentheti.

IMMUN-3

Deciduális és perifériás lymphocyták összehasonlító vizsgálata a terhesség I. trimeszterében

Emmert Dominika

V. biológus

PTE TTK

témavezető: Dr. Mikó Éva egyetemi tanársegéd

konzulens: Dr. Kerepesi Ildikó egyetemi docens

Az implantáció a megtermékenyített petesejtnek az anyaméhbe történő sikeres beágyazódása. Ez az esemény a megtermékenyítést követő 6-7. napon veszi kezdetét, ezzel együtt immunológiai szempontból fontos reakciók indulnak meg. A terhesség során az anya szervezetében fejlődő magzat genetikai állománya felerészt az apától származik, így immunológiai értelemben idegennek tekinthető. A fejlődő embrió egészséges terhesség során mégsem lökődik ki az édesanya szervezetéből a speciális anyai immunmechanizmusok beindulása miatt. A magzat és az anya immunológiai kapcsolata kétoldalú folyamat. Magzati részről a magzatra jellemző antigének prezentálása, anyai részről pedig ezek felismerése.

A terhesség 9 hónapja alatti immunreguláció megfelelő működése nagyon fontos, mert ha valamelyik szakaszában szabályozási elégtelenségek lépnek fel, azok klinikai kórképek formájában mutatkoznak meg. Így például az első trimeszterben jelentkező zavarok habituális vetéléshez, a harmadik trimeszterben előforduló elégtelenségek pedig toxémiához vezethetnek.

Kutatásaink során koraterhességből (<12 hét) származó méhszövetből (*decidua*) izolált lymphocyták és az anya perifériás lymphocytáinak összehasonlító vizsgálatát (fenotípusos és funkcionális) végeztük *flow cytometriás* módszerrel. A várható eredmények segíthetnek azon szabályozó mechanizmusok megismerésében, melyek egészséges terhesség során képesek a nagyrészt cytotoxikus hatású NK és gamma-delta T sejtek funkcióját oly módon befolyásolni, hogy azok a terhesség megtartását szolgálják.

A csontvelői sztrómasejtek immunszuppresszív hatásának egy lehetséges mechanizmusa: apoptózis indukálása T sejtekben a galektin-1 molekula által

Kónya Viktória

V. biológus

SZTE TTK Biokémia Tanszék

témavezető: Dr. Monostori Éva, tudományos főmunkatárs

konzulens: Dr. Hermes Edit, egyetemi adjunktus

A vérképző őssejtekérésének folyamatát a csontvelői mesenchymális őssejtek (MSC=mesenchymal stem cells) és a sztrómasejtek hálózata biztosítja. A legértelmebb, legplasztikusabb MSC-k sejt kultúrában mindhárom csírvonal irányába differenciálódhatnak. Egyedi jellemzőjük, hogy idegen szövetbe oltva nem váltanak ki immunválaszt, sőt kifejezetten gátolják azt. Ezért ígéretes terápiás eszköznek tartják allogén transzplantációknál, Graft versus Host betegségben (GVHD) és különböző károsodott szövetek pótlásánál. Az immunszuppresszív hatás közvetítő faktora(i)t ezidáig csak kevésbé jellemezték. Legvalószínűbb, hogy gyulladáscsökkentő citokinek szekréciójával magyarázható.

Az MSC-k nagy mennyiségű galektin-1-et (Gal-1) termelnek, amelynek erőteljes gyulladásgátló és immunszuppresszív hatását laboratóriumunk és más munkacsoportok igazolták. A Gal-1 éretlen tímuszsejtek, aktivált T sejtek és különböző leukémiás T sejt vonalak apoptózisát okozza.

Kérdésünk az volt, hogy a mesenchymális őssejtek által termelt Gal-1 befolyásolja-e a T sejtek életképességét, hozzájárulva ezzel az MSC immunszuppresszív hatásához.

Eredmények: semi-quantitatív Western blot analízissel meghatároztam a mesenchymális őssejtek összes Gal-1 tartalmát és áramlási citometriás méréssel vizsgáltam a sejt felszíni Gal-1 mennyiségét. A mesenchymális őssejtekkel együtt tenyésztett Jurkat sejtek életképességét 24 óra elteltével konfokális mikroszkópiával vizsgáltam. A mesenchymális őssejtek felszínén láthatóvá tett Gal-1 sejt-sejt kölcsönhatás útján került át a Jurkat sejtek felszínére és így a T sejtek apoptózisát okozta. Az apoptózist a plazmamembrán belső felszínén elhelyezkedő foszfatidil szerinnek a külső felszín felé való fordulásával, AnnexinV-FITC festéssel mutattam ki. A T sejtek nagy része mutatott AnnexinV-FITC pozitivitást.

A mesenchymális őssejtek által termelt galektin-1-nek tehát szerepe lehet a T sejtek apoptózisában és ezáltal a mesenchymális őssejtek immunszuppresszív hatásának kiváltásában.

IMMUN-5

A bovin FcRn szerepe az immunglobulin metabolizmusban

Schneider Zita

V. állatorvos-doktor

SZIE ÁOTK Élettani és Biokémiai Tanszék

témavezetők: Dr. Kacskovics Imre tudományos főmunkatárs

Dr. Mayer Balázs tudományos műszaki ügyintéző

A neonatalis Fc receptor (FcRn) számos epithelsejtben expresszálódik és biztosítja a transzepithelialis IgG transzportot. Endothelsejtekben kifejeződve viszont alapvető szerepet játszik a keringő IgG lebomlásának megakadályozásában. Vizsgálataim során a szarvasmarha FcRn (bFcRn) immunglobulin homeosztázisra vonatkozó szerepét tanulmányoztam szarvasmarhában és transzgénikus egerekben.

Korábbi *in vitro* kísérletek során kiderült, hogy a bFcRn meglepő módon sokkal erősebben köti a humán, mint a szarvasmarha IgG molekulát. Ennek IgG katabolizmusra gyakorolt hatását úgy vizsgáltuk, hogy borjakba és tehenekbe humán IgG-t injektáltunk és kiürülésüket elemeztük. Megállapítottuk, hogy a humán IgG felezési ideje valóban sokkal hosszabb annál, mint ami a bovin IgG-re jellemző. Megvizsgáltuk továbbá 50 újszülött borjúból az anyai IgG lebomlását, és egy állat esetén az IgG féleletidejének jelentős rövidülését tapasztaltuk. Ebbe a borjúból humán IgG-t fecskendezve igazolható volt a bFcRn protektív szerepének szignifikáns csökkenése. E klinikailag fontos kérdés tisztázása jelen kutatások tárgya.

További elemzéseinkhez dr. Bösze Zsuzsanna munkacsoportjával (Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont) közösen a bFcRn-t különböző kópiaszámban kifejező transzgénikus egereket hoztunk létre. A kópiaszám függő bFcRn expressziót real-time PCR, northern- és western blotok igazolták. Az egerekben kifejeződő bFcRn működését a korábbiakhoz hasonlóan úgy ellenőriztük, hogy vérpályájukba antigén-specifikus egér és humán IgG-t fecskendeztünk. Az exogén IgG-k felezési ideje a transzgénikus egerekben szignifikánsan hosszabbnak bizonyult, mint a vad típusú egerekben, igazolva ezzel a bFcRn funkcionális intaktságát. Vizsgáltuk továbbá az ovalbuminnal történt immunizálást követően megjelenő specifikus IgG mennyiségét. Azt találtuk, hogy a képződött IgG szignifikánsan nagyobb mértékű volt a bFcRn-t expresszáló egyedekben. Mindez magában rejtje a nagy mennyiségű specifikus ellenanyag gazdaságosabb előállításának lehetőségét, de megítélésünk szerint eredményeink jelentőséggel bírnak az állatorvosi praxisban, sőt a humán terápiában is.

HOFI: új SH3-domén-adaptor azonosítása a dendritikus sejtekben

Simon Tünde

V. molekuláris biológus (2007)

DEOEC Immunológiai Intézet

témavezető: Dr. Lányi Árpád docens

A fagocita oxidáz enzimek reaktív szuperoxid és oxid anionokat szabadítanak fel, mely komponensek, például a baktériumok elleni védekezés kulcselemei. A humán monocitákból származó dendritikus sejtek (DC) is kifejezik a NADPH-oxidáz rendszer elemeit, azonban a peroxid termelés molekuláris szintű szabályozása DC-kben ismeretlen.

A BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) program segítségével azonosítottuk a fagocita oxidáz p47-es alegységének egy eddig ismeretlen homológját (p49), amelyről megállapítottuk, hogy RNS-ének létezik egy másik splice variánsa is. A hosszabb transzkriptum, amely két átfedő klón formájában volt jelen az adatbázisban, egy új fehérjét kódol, ami egy lipídkötő PX-domént és négy SH3 (Src-homology 3) domént tartalmaz. A hipotetikus fehérje nagyfokú szerkezeti-és szekvencia homológiát mutat a FISH (Five SH3-domain protein) fehérjével, mely részt vesz a sejtek motilitásának szabályozásában, metalloproteinázok szintézisének aktiválásában, és ezáltal fokozza a tumorsejtek metasztatizáló képességét. A nagyfokú homológia miatt az új proteint HOFI-nak (Homologue of FISH) neveztük el.

A teljes HOFI mRNS-t két EST (Expressed Sequence Tag) segítségével hoztuk létre, a p49 és a KIA1295 EST klón mintegy 100bp-nyi átfedő szakaszán található EcoRI enzim felismerő hely felhasználásával. Az így keletkezett mRNS egy 911 aminosav hosszúságú fehérjét kódol, a már említett PX és SH3 doménekkal. A teljes kódoló régiót reprezentáló cDNS-t a pEGFP és pRFP fluoreszcens fúziós proteinek expressziójára alkalmas vektorokba klónoztuk, melyek segítségével vizsgálhatóvá vált a HOFI protein intracelluláris lokalizációja.

A "új" gén expresszióját monocita eredetű dendritikus sejtekben és tumor sejtvonalakban PCR és western blot technika segítségével vizsgáltuk. A HOFI-specifikus ellenanyagot nyulak p49 GST fúziós fehérjével történő immunizálásával állítottuk elő. Humán embrionális vese sejtvonal (293T) transzfekciójával bizonyítottuk, hogy a HOFI, a FISH fehérjéhez hasonlóan szubsztrátja a Src családba tartozó vSrc és Lck protein tirozin kinázoknak. Feltételezzük, hogy az új fehérje részt vesz a dendritikus sejtek és a tumoros sejtek migrációjának szabályozásában.

Jelenleg in vitro vizsgálatok folynak a protein migrációját illetően, valamint az új fehérjével kölcsönhatásba lépő egyéb proteineket keressük élesztő kettős hibrid módszerrel.

IMMUN-7

Delta-2+ és iNKT sejtek szerepe normál terhességben és pre-eclampszában

Szatyor-Járvóvich Andrea

V. biológus

PTE TTK

témavezető: Dr. Mikó Éva egyetemi tanársegéd

konzulens: Dr. Gábríel Róbert egyetemi tanár

A pre-eclampsia eddig tisztázatlan etiológiájú megbetegedés, melynek hátterében számos kóros mechanizmus figyelhető meg, mint pl. generalizált endothelkárosodás, elégtelen placentáció, túlzott maternális gyulladásos reakció és káros immunológiai eltérések. A pre-eclampsia immunológiailag Th1 irányú eltolódással jellemezhető, zavart szenvednek azon anyai tolerancia-mechanizmusok, melyek a magzat normális fejlődését biztosítanák a terhesség alatt. Az invariáns NKT (iNKT) sejtek a perifériás vér lymphocytáinak kis populációját alkotják, viszont fontos kapcsolatot teremtenek a természetes és szerzett immunitás között azáltal, hogy mind végrehajtó, mind szabályzó immunológiai mechanizmusok kivitelezésére képesek. A γ/δ T sejtekkel együtt terhesség során a decíduális szövetekben halmozódnak fel jelentős mértékben. Munkánk során a $\delta 2+$ és iNKT sejtek lehetséges szerepét vizsgáltuk a harmadik trimeszter során és pre-eclampszában.

Egészséges és pre-eclampsia tüneteit mutató terhes nők perifériás véréből flow cytometriás analízissel határoztuk meg a $\delta 2+$ és iNKT sejtek arányát, illetve ezen sejtek perforintartalmát, CD69 (korai aktivációs marker), NKG2A (NK inhibitoros receptor) NKG2D, CD160, NKG2C (NK aktiváló receptorok) felszíni expresszióját.

Egészséges terhesség esetén, nem terhes donorokhoz viszonyítva a perforin-, illetve IFN- γ tartalmú $\delta 2+$ és iNKT sejtek száma szignifikáns csökkenést mutatott. A fenti eredményekkel ellentétben pre-eclampsias betegekben ezen változás elmarad. Az iNKT sejtek aktiváltsága szignifikánsan magasabb pre-eclampszában a többi donorcsoportéhoz képest. Számos eltérés mutatkozott a vizsgált sejtpopulációk NK aktiváló és inhibitoros receptor expressziójában. Eredményeink arra utalnak, hogy ezen sejtpopulációk pre-eclampszában, Th1-es jelleget mutatnak amely jelenség a terhesség kimenetele szempontjából kedvezőtlen. Pre-eclampszában a $\delta 2+$ és iNKT sejtpopulációkban megfigyelt változások arra engednek következtetni, hogy ezen sejtek is aktívan részt vesznek a betegség során megfigyelhető kóros immunológiai elváltozások kialakításában, továbbá ezen paraméterek szűrése diagnosztikai jelentőséggel is bírhat.

IMMUN-8

A humán galektin-1 által kiváltott T-sejt apoptózis molekuláris mechanizmusa

Szebeni Gábor János

V. biológus

SZTE TTK Mikrobiológia Tanszék

témavezető: Dr. Monostori Éva tudományos főmunkatárs

konzulens: Dr. Vágvölgyi Csaba egyetemi docens

Az S-típusú lektinek (galektinek) családjába tartozó galektin-1 (Gal-1) egy globuláris szerkezetű, 6- és 5-szálú antiparalell β -lemezből felépülő, 14,5kD molekulatömegű fehérje. Konzervált szénhidrátkötő doménjével a sejtfelszín ill. az extracelluláris mátrix β -galaktozil tartalmú glykokonjugátumaihoz kötődik. Számos biológiai funkcióját (adhéziós, differenciálódás, apoptotikus folyamatok) szöveti és időbeli kifejeződésének szigorú szabályozása biztosítja. Számunkra az immunválaszban betöltött gyulladáscsökkentő szerepe a legfontosabb. Immunszuppresszív hatása elsősorban az aktivált T-sejtekre gyakorolt citotoxikus hatásának köszönhető. Bár az utóbbi években a Gal-1 által indukált sejthalál mechanizmusának meghatározása a kutatások előterében volt, mégis a jelátviteli pálya leírása sok szempontból elégtelen. Célunk a Gal-1 által stimulált T-sejt apoptózis molekuláris mechanizmusának lehető legteljesebb azonosítása volt. Kimutattuk, hogy a humán galektin-1 által kiváltott sejthalál az apoptózis mitokondriális útvonalán történik. Az apoptózis központi és nélkülözhetetlen biokémiai lépései a $p56^{lck}$ és ZAP70 mediált tirozin foszforiláció, melyet a savas szfingomielináz aktivációja révén bekövetkező ceramid felszabadulás, az anti-apoptotikus Bcl-2 szint csökkenése, a mitokondrium depolarizálódása, az iniciátor kaszpáz 9 és az effektor kaszpáz 3 aktiválódása, és végül intenzív fehérje és DNS lebomlás követ.

IMMUN-9

**NALP2 molekula konstitutív és indukálható expressziójának vizsgálata
sejtvonalakon és primer sejteken**

Varga Aliz

V. molekuláris biológus

DE OEC Immunológiai Intézet

témavezetők: Dr. Benkő Szilvia egyetemi tanársegéd

Dr. Rajnavölgyi Éva egyetemi tanár

A CATERPILLER (CARD, transcription enhancer, R-(purine) binding, pyrin, lots of LRR) család molekulái a patogén ill. károsodott molekulák intracelluláris szenzoraiként a természetes immunválasz beindításában és összehangolásában vesznek részt. Közös jellemzőjük, hogy N-terminálisan egy fehérje-fehérje kölcsönhatásokat közvetítő domén található. Ezen domén alapján a családot alcsoportokra oszthatjuk, így megkülönböztetjük többek között a PYD domént tartalmazó Nalp alcsoportot.

A CATERPILLER család fehérjéi más fehérjékkel komplexeket alakíthatnak ki, melyek működése kaspázok aktiválása révén egyrészt apoptózist eredményezhet, másrészt az NFkB útvonál szabályozásán keresztül, citokin termelés révén gyulladásos folyamatok szabályozásában vehetnek részt.

Az epidermisz a bőr külső rétegeként az immunrendszer első védelmi vonala, óvja a szervezetet a környezeti ártalmaktól, pl. az UVB sugárzástól. Az UVB indukálta sejtes ártandozódás és a sejtek által termelt citokinek együttesen a bőr fiziológias immunsuppressziójához vezetnek. Ezt a folyamatot az UVB sugárzás következtében károsodott vagy megváltozott molekulák idézik elő. Mindezek felvetik annak a lehetőségét, hogy a Nalp molekulák az UVB sugárzás hatására molekulakárosodások érzékelése révén szabályozzák a keratinociták általi citokin termelést.

Korábbi irodalmi adatok alapján a Nalp-ok nagy részét többek között az NFkB útvonál aktivátoraiként tartották számon. Legújabb kutatások szerint azonban a Nalp2 molekula gátolja az NFkB útvonalat. Irodalmi adatokból, valamint munkacsoportunk által a dendritikus sejteken és humán keratinocita sejteken végzett előkísérletekből tudjuk, hogy a Nalp2 a többi Nalp-tól eltérő expressziós és funkcionális tulajdonságokkal rendelkezik, ezért célul tűztük ki a molekula kifejeződésének és működésének vizsgálatát humán keratinocitákban.

A Nalp-ok RNS-expressziójának változásait megvizsgáltuk UVB sugárzás hatására HaCaT és humán keratinocita sejteken RT-PCR ill. Q-PCR technika segítségével, továbbá a citokin termelés változásait mértük ELISA módszerrel. Eredményeink szerint ezekben a sejtekben a Nalp-ok mennyisége általánosságban csökkent, az általunk vizsgált citokinek koncentrációja nőtt UVB kezelés hatására. A Nalp1, Nalp2 és Nalp3 RNS-ek egymástól eltérő expressziós mintázatot mutatnak mind a HaCaT, mind a humán keratinocita mintákban, valamint különbségek mutathatók ki a vizsgált két sejtkultúra között is az említett Nalp-ok kifejeződésében.

MIKROBIOLÓGIA 1. TAGOZAT

MIKROBII-1

Genommanipulációs módszerek vizsgálata az *Escherichia coli* baktériumban

Csörgő Bálint

V. biológus

SZTE TTK Genetikai és Molekuláris Biológiai Tanszék

témavezető: Dr. Pósfai György tudományos tanácsadó

konzulens: Dr. Boros Imre egyetemi tanár

Az *Escherichia coli* K-12 a molekuláris biológia legismertebb modellszervezete és az ipari célú DNS, metabolit és fehérje termelés gyakori gazdaszervezete. A változatos feladatok elvégzésére különböző törzsek előállítása szükséges, amely hatékony genommanipulációs módszereket igényel. Az öngyilkos plazmid szabályozta, homológ rekombináción alapuló gén-helyettesítő módszer egy kézenfekvő genommodosító eszköz. Egymást követő rekombinációs események során a módosított allélt hordozó plazmid először integrálódik a genomba, majd ki is vágódik, ezáltal egy módosított genomot, vagy az eredeti, vad-típusú kromoszómát eredményezve. A *lac* operon kromoszomális célpontként felhasználva, szisztematikusan megvizsgáltuk több különböző tényezőnek az eljárás végeredményére gyakorolt hatását. A rekombinációs aktivitás arányos volt a homológ szakasz hosszával. Egy megfelelő orientációban elhelyezkedő Chi szekvencia stabilizálta a törött kromoszóma végeket és stimulálta a rekombinációt a tőle downstream elhelyezkedő genomi régióban. Egy dupla szálú genomtörés (DSB) beiktatása a kromoszómán a szabad DNS végek rekombinációját nagyban serkentette. Eredményeink az *E. coli* genomjában zajló intra- és intermolekuláris rekombináció összetett folyamatok néhány részletéről szolgálnak információval. Ha eredményeinket figyelembe vesszük egy genomszakasz módosításához készített plazmidkonstrukció megtervezésénél, akkor a sorozatos genommodifikációkat gyorsabban és hatékonyabban tudjuk elvégezni.

MIKROBI1-2

A glikopeptid rezisztenciáért felelős gének vizsgálata *Enterococcus* fajokban

Dombrádi Zsuzsanna
V. molekuláris biológus
DE OEC Orvosi Mikrobiológiai Intézet
témavezető: Dr. Szabó Judit egyetemi docens

Az *Enterococcus*-ok gyakori nozokómiális patogének. Világszerte terápiás gondot jelent a glikopeptid típusú antibiotikumokkal (vancomycin, teicoplanin) szemben rezisztens *Enterococcus* (VRE) törzsek kialakulása. A Clinical Laboratory Standards Institute ajánlása alapján vancomycin tartalmú screen lemezzel lehet kiszűrni a gyanús törzseket. A glikopeptid rezisztencia meghatározása E-tesztel, vagy automata analízáló berendezéssel (VITEK2) történik. A VRE molekuláris diagnosztikája a rezisztencia kialakulásáért felelős *VanA*, *VanB*, *VanC*, *VanD*, *VanE* és *VanG* gének multiplex polimeráz láncreakció (PCR) segítségével történő kimutatásán alapul. A VRE magyarországi előfordulásáról csak szórványos adatok állnak rendelkezésünkre.

A DE OEC Orvosi Mikrobiológiai Intézet Bakteriológiai Diagnosztikai Laboratóriumában 2004.01.01-2006.11.13 között kitenyésztett 3946 *Enterococcus* mintából 44 bizonyult vancomycin rezisztensnek. Munkám során ezek közül hat mintát részletesen elemeztem, mikrobiológiai, biokémiai és molekuláris biológiai módszerekkel. Egy esetben igazolni tudtam a magas rezisztenciát mutató mintában a D-alanin-D-laktát ligáz kódoló *VanA* gént hordozó *E. faecalis* baktériumot. Két mintában találtam a mérsékelt rezisztenciáért felelős D-alanin-D-szerin ligáz kódoló *VanC1* gént tartalmazó *E. faecalis*-t, és egy esetben ugyanezt a gént *E. casseliflavus*-ban azonosítottam. A vizsgált minták egyike kevert (*E. faecalis* és *E. casseliflavus* tartalmú) volt, és egy mintában *Kocuria varians*-t lehetett kimutatni VITEK2 és PCR segítségével. A rezisztencia gének azonosítását az amplifikált, illetve klónozott DNS szakaszok szekvenálásával is megerősítettem.

Eredményeim azt mutatják, hogy a hazai beteganyagban VRE csak ritkán fordul elő. Molekuláris biológiai kísérleteimmel először bizonyítottam a *VanC1* rezisztencia gén magyarországi megjelenését.

MIKROBII-3

Ellenanyagostályok szerepe Epstein-Barr vírusfertőzésekben

Gyöngyösi Eszter és László Brigitta

V. molekuláris biológus

DE OEC Orvosi Mikrobiológia Intézet

témavezető: Dr. Kónya József egyetemi docens

Munkánk során azt szeretettük volna megvizsgálni, hogy milyen antigénekkal szemben van jelen ellenanyag az Epstein-Barr vírus (EBV) fertőzés különböző stádiumaiban és, hogy az anti-VCA ellenanyag titer hogyan korrelál a szerológiai profillal. Vizsgálatainkhoz 4 mintacsoportot választottunk ki:

1. Primer EBV fertőzés (n=41), amiben az anti-EBV-IgM pozitív és a késői szerológiai markerek, az anti-VCA(p18)-IgG és az anti-EBNA-IgG negatív.

A primer fertőzést követő latens fertőzést két csoportba soroltuk az anti-EA IgG ellenanyag alapján, amely ellenanyagok mind a primer, mind a reaktiválódott fertőzésekben megjelennek és a gyógyulás után egyénileg változó ideig perzisztálnak.

2. Latens fertőzés, amiben anti-EA-IgG ellenanyagok nincsenek (n=36).

3. Latens fertőzés, ahol az anti-EA-IgG pozitív (n=69).

4. A reaktiválódott EBV fertőzésben szenvedő betegek alkották az utolsó vizsgálati csoportot (n=69), ebben az IgA ellenanyagok mutattak pozitivitást egy vagy több antigén ellen is.

Immunoblot technika segítségével a szérumminták szerológiai profilját határoztuk meg és azt is, hogy milyen antigénekkal szemben mutatható ki ellenanyag az EBV fertőzés különböző stádiumaiban. A szérumminták anti-VCA-IgG titerét immunfluoreszcens módszerrel vizsgáltuk B-95-8 majom lymphoid sejtekből készített keneteken.

A vizsgálataink során azt kaptuk, hogy a primer fertőzést az anti-EA válasz érzékenyebben jelzi, mint az anti-VCA válasz. IgM esetén 94%-ban, IgG esetén 100%-ban kapjuk meg ezt az eredményt.

A perzisztens fertőzést a VCA(p18) elleni IgG érzékenyebben jelzi (98%-ban), mint az EBNA1 elleni IgG. Az anti-VCA(p18) tehát szenzitívebb markere annak, hogy a primer fertőzés a múltban zajlott le.

Az anti-EBNA1 hiányában 8,09-szer (CI:1,4-82,5) nagyobb az esélye, hogy az anti-EA-IgG nem a fertőzés reaktivációja miatt jelenik meg, hanem az ellenanyagok perzisztálásának köszönhető.

Az anti-EA IgG ellenanyagok jelenléte jól korrelál az emelkedett IgG titerrel. Az EBV replikáció ugyanis emelkedett IgG titerrel és az anti-EA ellenanyagok jelenlétével jár együtt.

A reaktiválódott fertőzést a VCA és az EA(p54) elleni antitestekkel 100%-ban lehet detektálni, ugyanis ahol a VCA elleni IgA nem jelenik meg, ott minden esetben jelen volt az EA(p54) elleni IgA.

MIKROBII-4

Egy kórház vízrendszerében élő patogén baktériumok kimutatása molekuláris biológiai módszerekkel

Heéger Zsófia

biológus (2007)

ELTE TTK Mikrobiológiai Tanszék

témavezető: Felföldi Tamás tudományos segédmunkatárs

A vízellátó rendszerekben a mikroorganizmusok a felületekhez kötődve képesek biofilm létrehozására, amelyben patogén vagy fakultatív patogén baktériumok is megtelepedhetnek és elszaporodhatnak. Ezek a biofilmek lehetnek a kiindulópontjai számos nozokomiális (kórházi eredetű) fertőzésnek, amelyet egy egészséges ember könnyen kivédene, ám a legyengült immunrendszerű betegek sokkal fogékonyabbak a fertőzésekre.

A vizsgálatokhoz használt mintáink egy budapesti kórház különböző osztályainak vizesblokkjaiból, illetve egy kerti csapból származtak. Molekuláris biológiai módszerekkel vizsgáltuk a vízben előforduló baktériumokat: 16S rDNS alapú taxonspecifikus PCR-eket, illetve a közösség összetételének vizsgálatára denaturáló gradiens gélelektroforézist (DGGE) és klónozást, majd szekvencia-analízist végeztünk.

Az általunk használt taxonspecifikus PCR-ek a tenyésztésen alapuló módszereknél alkalmasabbnak bizonyultak a *Legionella* és *Pseudomonas* génuszok detektálására. A DGGE-mintázatok hasonlóságának hátterében a mintavételi helyek közti távolság, valamint a vízminták fiziko-kémiai paramétereinek különbsége állhat. A DGGE-csíkokból kivágott DNS szekvencia-analízise során sikerült azonosítani a *Planococcus* génuszba tartozó baktériumokat (nem kórokozó baktériumok, amelyek a vízben általánosan előfordulnak) valamint a *Burkholderia* genusz jelenlétét (fakultatív patogén baktériumok is tartoznak ide). A molekuláris klónozás során egyéb potenciálisan patogén baktériumokat is sikerült kimutatnunk (*Stenotrophomonas maltophilia*, *Corynebacterium tuberculostearicum*, *Oerskovia turbata*, *Escherichia coli*, *Acidovorax* sp., *Streptococcus* sp. stb), valamint nem patogén baktériumokat is azonosítottunk (*Thermus* sp., *Dechloromonas* sp., *Nitrospira* sp., *Halomonas marisflava*, stb). A DGGE és a klónozás során is nagy számban azonosítottunk eddig tenyésztésbe nem vont baktériumokat.

MIKROBII-5

Karotinoidtermelő járomspórás gombák molekuláris és fiziológiai jellemzése

Jeneiné Barta Krisztina

V. biológus

SZTE TTK Mikrobiológiai Tanszék

témavezető: Dr. Papp Tamás egyetemi adjunktus

A karotinoidok az egyik legismertebb pigmentcsoport. Antioxidáns jellegük, egyes daganatos megbetegedésekkel szembeni védő és immunrendszert erősítő hatásuk az emberi táplálkozásban is fontossá teszi őket. A járomspórás *Blakeslea trispora*, a *Phycomyces blakesleeanus* és a *Mucor circinelloides* régóta használt modell organizmusai a karotin szintézis tanulmányozásának; közülük a *B. trispora*t ipari termeltetésre is használják. Eddig kizárólag e három faj karotintermelését vizsgálták részletesen, noha a Mucorales rendben számos faj található, melyek, előzetes morfológiai vizsgálatok alapján, legalább olyan jó termelőnek tűnnek, mint a fent említett szervezetek. Mindezek alapján munkánk célja új, mind az alapkutatás, mind a későbbi ipari felhasználás szempontjából értékes termelő törzsek felkutatása és jellemzése, valamint a karotintermelés fokozása és módosítása egyes kiválasztott törzsekben, illetve az ehhez szükséges genetikai transzformációs rendszer kiépítése.

Mintegy 20 *Mucor*, illetve más rokon fajokhoz tartozó izolátum karotin tartalmát határoztuk meg HPLC analízissel, vizsgáltuk a fény, a hőmérséklet és egyes szénforrások hatását is a termelésre. Számos *Mucor* izolátum termelte a β -karotin hidroxilált származékait (pl. zeaxantint és β -kriptoxantint). A legígéretesebbnek a *M. bainieri* és a *M. hiemalis* egyes izolátumai bizonyultak, ezek karotintermelése körülbelül kétszerese volt a *M. circinelloides* vad típusú törzseinek. A *Blakesleához* közel álló *Gilbertella persicaria* egyedi karotinprofilt mutatott, detektálható mennyiségben termelt asztaxantint és más ketokarotinoidokat. E gomba részletes vizsgálatát is megkezdjük. Izoláltuk az izoprén bioszintézis egyik kulcslépését katalizáló enzim, az izopentenil pirofoszfát izomeráz génjét ebből a gombából, mely, reményeink szerint, felhasználható a karotintermelés befolyásolását célzó kísérletekben. Megkezdjük a *G. persicaria* karotintermelésének módosítását lehetővé tevő transzformációs és szelekciós rendszerek kidolgozását és optimalizálását is.

MIKROBI1-6

A CP7_E2alf marker vakcina-jelölt ártalmatlansági vizsgálata vemhes kocákon

Lévai Réka

V. biológus

ELTE TTK Mikrobiológia Tanszék

témavezető: Dr. Barna Tímea állatorvos

konzulens: Romsics Csaba tudományos segédmunkatárs

A 2005-ös év őszén, a budapesti Állatgyógyászati, Oltóanyag-, Gyógyszer- és Takarmányellenőrző Intézet gödöllői állatházában lezajlott kísérletünk célja az volt, hogy megvizsgáljuk a klasszikus sertéspestis (CSF) ellen kifejlesztett vakcina-jelölt vírus ártalmatlanságát vemhes kocákon és azok utódain.

A CSF elleni oltóanyagok használata az EU tagállamaiban szigorú szabályozás alatt áll, és általában nem engedélyezett. A vakcina fejlesztésben nagy áttörést jelenthetnek a járványtani követelményeknek jobban megfelelő markervakcinák. Ezek az oltóanyagok a természetes fertőződés során kialakulótól eltérő immunválaszt indukálnak. Vektorvakcináknak is nevezik ezeket, mivel az adott betegséget okozó vírus immunogenitását felelős antigénjét egy, az érintett állatra nézve ártalmatlan kórokozó genomja mint vektor hordozza. Ennek eredményeképpen pedig az állományon belül megvalósulhat a fertőzött és a vakcinázott állatok szerológiai elkülönítése, hiszen a vakcinatörzzsel szemben keletkezett ellenanyagok a vadvirulens vírus ellen termelődött antitestektől diszkriminatív ELISA-próbával elkülöníthetők.

Az állatházi munkálatok során a kocákat a vemhességük különböző szakaszában oltottuk be a kimérát tartalmazó szövetfelülűszóval, majd a vemhesség lefolyását és az almok egészségügyi státuszát folyamatosan ellenőriztük. Vérvétellel jutottunk a szükséges mintákhoz, és a labormunkálatok során ezeket vetettük különböző vizsgálatok alá. Antigén- és ellenanyag-ELISA-val kerestük a kocák és a malacok szérumában a vírusantigéneket, ill. a specifikus ellenanyagokat. Néhány ELISA-val kétes szérumnál RT-PCR-rel zártuk ki, illetve erősítettük meg a vakcinavírus, illetve az erre specifikus ellenanyagok jelenlétét. A kocák savóinál hemagglutináció-gátlás próbát is végeztünk a szintén magzatkárosító hatású Parvovírus-fertőzés lehetőségének kizárására.

A közeljövőben az ELISA-val kérdéses eredményt adó mintákat PK-15 szövettenyészetben végzett vírusneutralizációs próbának is alávetjük majd.

Összességében megállapítottuk, hogy a CP7_E2alf kiméra az Európai Gyógyszerkönyv előírásainak megfelelő kísérlet alapján ártalmatlannak bizonyult a vizsgált csoportban, és nem jutott át a placentán. Természetesen további vizsgálatokat helyeztünk még kilátásba.

MIKROBII-7

Kataláz gén izolálása és funkcionális elemzése humánpatogén járomspórás opportunistá gombákon

Linka Beáta

biológus (2006)

SZTE TTK Mikrobiológia Tanszék

témavezető: Dr. Papp Tamás egyetemi adjunktus

Munkám célkitűzése a virulenciához kapcsolható genetikai elemek azonosítása és molekuláris analízise opportunistá patogén járomspórás gombákban. A két nemzetség tagjai humán és állati kórokozóként egyaránt ismertek. Az általuk kiváltott zigomikózisok elsősorban immunszupresszált betegeknel, ketoacidózisban szenvedő cukorbetegeknek, egyes leukémiás megbetegedésekben, illetve súlyos égési sérülteknél okoznak gondot. Az ilyen mikózisokra fokozott figyelem irányul, mivel növekszik az állapotuk miatt potenciálisan veszélyeztetettek száma, továbbá a zigomikózisok kialakulása esetén a terápiás lehetőségek rendkívül korlátozottak. A jelenleg rendelkezésre álló gombaellenes szerek csekély mértékben hatásosak, így egyre sürgetőbb lenne új stratégiák kifejlesztése a fertőzések kezelésére, illetve megelőzésére.

Azonosítottuk, klónoztuk, és részletes molekuláris elemzést végeztünk a kataláz aktivitásért felelős géneken, elsősorban *R. mieheiből* és *R. oryzaeből*. A katalázoknak kulcsszerepük van a gazdaszervezet fagocitáló sejtjei, a neutrofil granulociták által termelt reaktív oxigénfélésekkel szembeni védekezésben. A neutropénia jelentős rizikófaktornak számít a zigomikózisok szempontjából, ennek ellenére a humán- és állati patogén járomspórás gombákból ezen enzimek genetikai háttere eddig teljesen felderítetlen volt. Jelenleg vizsgáljuk a gének expressziójának szabályozását és a géninaktiváció következményeit.

Ismert gomba (*Candida* és *Aspergillus*) kataláz szekvenciák alapján degenerált primereket terveztünk, sikerült felszaporítanunk *R. mieheiből* egy szakaszt. Ezzel párhuzamosan *R. oryzaeből* (ez a faj okozza a járomspórás gombafertőzések túlnyomó többségét) is sikerült három kataláz-homológ szakaszt azonosítani. Tanulmányozzuk az azonosított kataláz gének deléciójának, az enzimek inaktivációjának hatását a gomba patogenitására. Ehhez megfelelő transzformációs rendszerre van szükség. Ezért *Rhizomucor* és *R. oryzae pyr4* (*pyrG*; OMP dekarboxiláz) génszekvenciák ismeretében irányított mutagenézissel uracil auxotróf törzseket állítunk elő, melyeket az expressziós és géndiszruptációs kísérletekben használunk fel. Ezzel egyidejűleg az általunk azonosított kataláz szekvenciák alapján ezen gének elrontását lehetővé tevő vektorokat is előállítottuk.

Humán patogén *Candida* és *Aspergillus* fajok diagnosztikája molekuláris módszerekkel

Serly Julianna

V. biológus

SZTE Mikrobiológiai Tanszék

témavezető: Dr. Somogyvári Ferenc adjunktus

konzulens: Dr. Vágvolgyi Csaba egyetemi docens

A *Candida* és az *Aspergillus* fajok okozta megbetegedések aránya egyre magasabb az immunszupprimált státusszal járó intenzívebb orvosi beavatkozások következtében. A fertőzés jelentősége miatt számos metodikát dolgoztak ki, melyek egy része tenyésztéses eljárásokon, másik része molekuláris technikán alapul. A tenyésztéses eljárásokon alapuló módszerek időigényesek, gyakran hibás eredményhez vezetnek. A molekuláris technikák közül a PCR-alapú metodikák bizonyultak a leginkább megbízható és leggyorsabb módszereknek.

Célunk volt a gombainfekciók diagnózisára egy olyan valós idejű PCR-módszer kidolgozása, amely hibridizációs próbák alkalmazása nélkül képes a *Candida* és *Aspergillus* fajokat kimutatni és elkülöníteni.

A gombasejtfall eltávolításának céljából többféle módszert hasonlítottunk össze. A tenyészetek preparálásánál a lúgos kezelést, a klinikai minták preparálásánál az enzimes emésztést találtuk a megfelelőnek. A DNS kinyerésénél a tenyészetek esetében a kisózás, a klinikai minták esetében a szilikaoszlopos preparálás bizonyult hatékonynak. Vizsgálatainkat LightCycler (Roche) PCR-rel végeztük. Célszekvenciának az ITS2 régiót választottuk. Összehasonlítottuk az e régiót amplifikáló ITS1, 3, és 86 forward primereket, reverz primerként minden esetben az ITS4-et használtuk. A *Candida* fajok elkülönítésére az ITS1, ITS4 primerpár bizonyult megfelelőnek. Az *Aspergillus* fajok esetében ez a primerpár nem használható, mert a kb. 600 bp-nyi amplifikálandó régió túl hosszú. Ebben az esetben a kb. 250 bp hosszúságú terméket adó ITS4, ITS86 primerpárral dolgoztunk. Többféle mastermixeket (saját összeállítású, BIO-RAD IQ™ SuperMix, SIGMA SYBR® Green Taq ReadyMix™, Roche LightCycler-DNA Master SYBR Green I) optimalizáltunk. Végül a klinikai vizsgálatokhoz a Sigma és a Roche cégek mastermixét használtuk. Elvégeztük az amplikonok olvadáspont analízisét, ennek segítségével a különböző, szepszist okozó *Candida* fajok elkülöníthetőek voltak (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. kefyr*, *C. inconspicua* és *C. krusei*). A *Candida* és az *Aspergillus* fajokat elkülönítése is lehetővé vált az ITS4, ITS86 primerpár segítségével. Néhány klinikai mintán igazoltuk a módszer alkalmazhatóságát.

MIKROBII-9

A *Candida parapsilosis* genetikai variabilitásának és magyarországi előfordulásának vizsgálata

Tóth Mónika

V. biológus

SZTE TTK Mikrobiológiai Tanszék

témavezető: Dr. Varga János egyetemi docens

A *Candida* genus legfőbb humán patogén faja a *Candida albicans*, de az 1990-es évek óta egyre több a nem-*albicans Candida* által okozott megbetegedés. Földrajzi régiótól és betegpopulációtól függően a *C. parapsilosis*-t több vizsgálat a második leggyakoribb fajnak találta. A *C. parapsilosis* genetikai variabilitásával több kutató foglalkozik a 90-es évektől fogva. 2005-ben MLST vizsgálatok alapján az addigi 3 alcsoportot önálló fajjá minősítették.

A tágabb értelemben vett *C. parapsilosis* – azaz a 3 alcsoport – hazai genetikai heterogenitását és előfordulásának gyakoriságát 2004-2005-ös debreceni és pécsi klinikai mintákon vizsgáltuk. A 209 *Candida* izolátum között morfológiai és fiziológiai módszerekkel 26 *C. parapsilosis*-t azonosítottak. A mindhárom csoportra specifikus primerpárral 20 esetben kaptunk PCR terméket. Tehát a vizsgált időszakban a *C. parapsilosis* 9,6 %-os gyakorisággal fordult elő kórokozóként. Ez a korábbi magyarországi értéknél – 4,9 % (2002) – magasabb, de az európai átlagtól – 16,36% (2006) – elmarad.

A fajon belüli genetikai variabilitását RAPD analízissel és az rRNS génklusztter ITS régiójának szekvencia analízise révén vizsgáltuk. A korábbi I-es csoporton (ma már csak ezt értjük a *C. parapsilosis* alatt) belül heterogenitás nem volt tapasztalható a RAPD során; azonban eltérő számú és méretű sávokat kaptunk az ITS-szekvenciák alapján később *C. metapsilosis*-nak (korábbi III-as csoport) azonosított 2 izolátum esetében, és elkülönültek a korábban tévesen *C. parapsilosis*-nak identifikált minták is (6 izolátum).

A két *C. metapsilosis* elválasztható volt a *C. parapsilosis* mintáktól az I-es csoportra specifikus primerpárral is, esetükben nem kaptuk meg a várt terméket.

Közép-Európában korábban még nem azonosítottak *C. metapsilosis*-t. Emellett ez az első példa a *C. metapsilosis* vérből való izolálására.

A molekuláris eredményeket támasztotta alá az API 20C AUX szénasszimilációs teszt is; csak két *C. metapsilosis* izolátum volt képes a D-xylitolon való növeésre.

A minták antimikotikumokkal szembeni érzékenységet Etest segítségével határoztuk meg. A *C. metapsilosis* izolátumok, hasonlóan egy korábbi vizsgálathoz, érzékenyebbek voltak amfotericinB-re és vorikonazolra.

MIKROBIOLÓGIA 2. TAGOZAT

MIKROBI2-1

A *Penicillium chrysogenum* fonalas gomba által termelt kis móltömegű antifungális fehérje (PAF) hatásának vizsgálata jelátviteli útvonalban sérült *Aspergillus nidulans* mutánsokon

Balázs Anita

V. molekuláris biológus

DE TTK Mikrobiális Biotechnológiai és Sejtbiológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Pócsi István egyetemi docens

Dr. Leiter Éva tudományos munkatárs

A legtöbb élőlény termel kis molekulatömegű antimikrobiális fehérjét. A *Penicillium chrysogenum* fonalas gombából elsőként Marxnak és munkatársainak sikerült antifungális hatású, kis móltömegű fehérjét, PAF-ot izolálni. A PAF növekedést gátló hatása fonalas gombákon (pl. *Aspergillus fumigatus*, *A. nidulans*, *A. niger*, *Botrytis cinerea*, *Trichoderma koningii*) jelentkezik; gátolja a csírázást és torzult morfológiai formákat (a hifacsúcsok megduzzadását, illetve rövid hifa elágazásokat) okoz. A PAF hatásmechanizmusáról ismert, hogy *A. nidulans*ban K^+ -effluxot és hiperpolarizációt indukál, valamint fokozza a reaktív oxigénformák (ROS) akkumulálódását a mitokondriumokban, ami a mitokondriumok és végső soron a sejtek apoptózisához vezet.

*A. nidulans*ban a növekedést és sterigmatocisztin szintézist több G-proteinnel mediált jelátviteli útvonal szabályozza, amelynek fontos elemei a FadA és FlbA fehérjék. A *fadA* egy heterotrimer G-protein α -alegységét kódolja, amely aktív állapotban növekedési szignált közvetít és gátolja a spórázást, míg az FlbA fehérje ennek az alegységnek a GTP-áz aktivitását növeli, így blokkolva a FadA-val kapcsolt jelátviteli útvonalat. A *fadA*^{G203R} domináns interferáló mutáció gátolja a $G\alpha$ alegység leválását a $G\beta\gamma$ alegységről, amely ennél fogva a szignál útvonal gátlását eredményezi. Minthogy a *fadA*^{G203R} mutáns rezisztensnek bizonyult a PAF kezeléssel szemben feltételezhető, hogy a PAF valamilyen jelátviteli útvonal működését megzavarva fejti kihatását.

Kísérleteimben további szignál útvonalakban sérült *A. nidulans* mutáns növekedését vizsgáltam meg PAF jelenlétében. Rezisztensnek bizonyultak a következő deléciós mutánsok: $\Delta fadA$, $\Delta sfaD$, $\Delta gpgA$, $\Delta sfaD\Delta gpgA$, $\Delta phnA$, $\Delta sfgA$ és $\Delta rgsA$ törzsek. A FadA-SfaD-GpgA egy heterotrimer G protein α , β és γ alegységei, amelyek a PkaA útvonal részei. A PhnA az SfaD-GpgA összeszerelésében játszik szerepet. Az SfgA fehérje gátolja az FlbA működését. Az RgsA a GanB-SfaD-GpgA útvonal negatív regulátora, ez az útvonal részt vesz a stressz válasz aktiválásában, de serkenti a PkaA útvonal működését is. A fenti gének mindegyike közvetve vagy közvetlenül a FadA-SfaD-GpgA útvonalat befolyásolja és hiányuk ennek az útvonalnak a blokkolásához és végső soron PAF rezisztenciához vezet. Mivel a PAF apoptózist indukál *A. nidulans*ban, így ezen vizsgálatok segíthetnek a gombák apoptózisának szabályozásában érintett gének/fehérjék azonosításában is.

A *pha1* és *pha2* géncsoport szerepe *Agrobacterium tumefaciens*ben

Csoknya Julianna

IV. biológus

PTE TTK Genetikai és Molekuláris Biológiai Tanszék

témavezető: Dr. Putnoky Péter egyetemi tanár

A Rhizobiaceae családba tartozó Gram-negatív *Agrobacterium* fajok a kétszikű növényeket sebzési helyeken fertőzik, és tumorfejlődést, illetve hajszálgököresedést okoznak. A tumorképződés összefügg a tumort indukáló (Ti) plazmid jelenlétével, aminek egy része, az ún. transzfer vagy T-DNS, a fertőzés során átkerül a növényi sejtekbe, és stabilan integrálódik a sejtmag DNS állományába. A sikeres fertőzéshez a Ti-plazmid virulencia génjei (*vir*) és egyéb kromoszómális gének (*chvAB*) egyaránt szükségesek.

Az agrobaktériumokkal rokon, szimbiotikus gümőt létrehozó rhizobiumoknál a növény belsejében való szaporodáshoz szükséges a *pha* géncsoport is, amelynek szerepe van a pH homeosztázis fenntartásában. A *Sinorhizobium meliloti pha* génjeinek vizsgálata során bizonyították, hogy azok egy K^+/H^+ -antiportert kódolnak, amely lúgos külső pH esetén proton transzporttal segít a belső, savasabb pH érték megőrzésében. Ha a *pha* gének hibásak, a baktérium K^+ -érzékeny lesz, és nem képes a szimbiotikus partner inváziójára. *Bacillus subtilis* baktériumban szintén található egy *pha* homológ géncsoport (*mrp*), amiről viszont azt bizonyították, hogy Na^+/H^+ -antiportert kódol és a génekben hibás baktérium Na^+ -érzékeny.

A genom szekvenálások során kiderült, hogy mind *A. tumefaciens*, mind *S. meliloti* baktériumban két *pha* géncsoport is található. Feltételezhető, hogy az egyik K^+/H^+ -, a másik Na^+/H^+ -antiportert kódol.

Célul tűztük ki, hogy bizonyítsuk az *A. tumefaciens pha* géncsoportok funkcióját és megvizsgáljuk esetleges szerepüket a növény fertőzése során. Ennek érdekében PCR segítségével felszaporoztuk a *pha1* és a *pha2* régió egy-egy szakaszát, majd ezekbe egy kanamicin rezisztencia gént ültetve elkészítettük a gének mutáns változatait. A mutációt hordozó régiókat visszajuttatuk a vad típusú *A. tumefaciens* C58 törzsbe, és a létrejött feltételezett homológ rekombinánsokat különböző kísérletekben jellemeztük.

A *pha2* mutáns esetében bizonyítottuk, hogy az Na^+ -érzékeny, ami a Na^+ -transzportban bekövetkezett hibára utal. Növényi tesztek segítségével megállapítottuk, hogy a mutáció a tumorképzés folyamatát és a baktériumok növényen belüli szaporodását nem befolyásolja.

A *pha1* mutáns elkészítése folyamatban van. *S. meliloti*-ban végzett hasonló kísérletek alapján azt várjuk, hogy a *pha1* régióban hibás *A. tumefaciens* törzs K^+ -érzékeny lesz, és esetleg sérült lehet a növény inváziójának folyamatában.

MIKROBI2-3

Egy *Phaffia rhodozyma* karotenoid mutáns törzs jellemzése

Horváth Eszter

biológus (2006)

PTE TTK Általános és Környezeti Mikrobiológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Pesti Miklós egyetemi tanár

Papp Gábor tanársegéd

A PTE TTK BI Általános és Környezeti Mikrobiológiai Tanszékének egyik programja a *Phaffia rhodozyma* pigment termelő élesztő vizsgálata, amely asztaxantint és más karotenoidokat termel. Ipari jelentőségét az adja, hogy a karotenoidok hasznosak lehetnek egyes tenyésztett halfajoknál a természetes hússzín kialakításában. Az asztaxantin emellett erőteljes antioxidáns hatással rendelkezik, és véd a szabadgyökök sejt-, és DNS-károsító hatásával szemben.

Munkámban egy rózsaszín telepet képző szülői törzset és egy karotenoidok bioszintézisében gátolt, fehér színű telepet képző mutáns törzset vizsgáltunk, amely nagy ellenállást mutatott oxidatív- és nehézfémstresszel szemben. A mutánsok között volt olyan karotenoidok bioszintézisében gátolt, fehér színű telepet képző mutáns törzs is, amelynek stressztűrése nem változott, tehát a karotenoid szintézis képességének elvesztése önmagában nem magyarázza a stressztűrőképesség megváltozását. Az ellenálló mutánt a vad típusú törzzsel összehasonlítva kerestük a jelenség mögött álló változások magyarázatát.

A karotenoidokat nem termelő mutánt összehasonlítva a szülői törzzsel nem indukált körülmények között az alábbi eredményeket kaptuk:

1. A törzsek alapjellemezését követően (szaporodási kinetika, generációs idő) kimutattuk, hogy a mutáns törzs HPLC-vel detektálható karotenoidokat nem tartalmaz.

2. Bár generációs idejük lényegében azonos, a mutáns törzs sejtmérete a vad törzsének közel harmada.

3. A karotenoid hiányos mutáns érzékenyebbnek bizonyult a hidrogénperoxiddal és az antimikotikumok közül a sejtmembrán permeabilitást befolyásoló mikonazollal szemben, de toleránsabb volt a cinkkel, az $\cdot\text{OH}$ gyököt indukáló kromáttal (Cr(VI)), valamint az oxidatív stresszorok közül a lipidperoxiddal (t-BOOH) szemben.

4. Középglog fázisú komplett táptalajon létrehozott tenyészetekben az intracelluláris reaktív gyökök közül a szuperoxid gyök ($\cdot\text{O}_2^-$) koncentrációja a 9-ed része a szülői törzsnek, az intracelluláris peroxid koncentrációja pedig szignifikánsan magasabb volt.

5. A mutáns törzs Cr(VI) redukáló képessége alacsonyabb, a hidroxil-gyök koncentrációk közt azonban nincs különbség.

6. A mutáns törzsben a kataláz specifikus enzimaktivitása 1/14-részére csökkent, ugyanakkor a glutation redukáz enzimaktivitása nem változott.

A jelenség oka, hogy a csökkent kataláz aktivitás miatt megnövekedett a peroxid ion koncentrációja a mutánsban, és a hidrogénperoxiddal szembeni érzékenység is ezzel magyarázható. Az eredmények alapján arra következtethetünk, hogy a megváltozott oxido-redukációs egyensúly hatására csökkent a GSH koncentrációja, ezért csökkent a Cr(VI) indukálta Cr(V) illetve $\cdot\text{OH}$ koncentráció.

Tehát nem az asztaxantin hiánya, hanem az oxido-redukációs rendszer egyensúlyának felbomlása eredményezte a megfigyelt jelenségeket.

**Különböző eredetű, a tudomány számára
új baktériumfajok polifázikus leírása**

Kéki Zsuzsa

V. biológus

ELTE TTK Mikrobiológiai Tanszék

témavezető: Dr. Tóth Erika egyetemi adjunktus

Környezetünkben alig akad hely, melyet ne népesítenének be mikrobák milliói. Ezek jelentős hányada a tudomány számára új fajt képvisel, melyek feltérképezése óriási kihívást jelent a kutatók számára. Az egyre szélesebb körben alkalmazott molekuláris módszerekkel ugyan jóval nagyobb bakteriális diverzitás tárható fel, de az ily módon kimutatott mikrobapopulációknak csupán töredéke tenyésztethető. Egy taxon leírásának alapvető feltétele, hogy a vizsgálni kívánt baktérium laboratóriumi körülmények között tenyésztethető legyen.

Jelen munkánk célja olyan baktériumtörzsek polifázikus vizsgálata és leírása, melyek a 16S rRNS gén parciális szekvencia analízise alapján új fajnak/nemzetségnek bizonyultak.

A vizsgálataink tárgyát képező baktériumtörzsek eredete: az S5 és E43-as jelölésű törzsek a *Wohlfahrtia magnifica* (Diptera: Sarcophagidae) légy lárvájából, a D287-es törzs a *Daphnia cucullata* (Crustacea: Cladocera) testhomogenizátumából, a K1-5, K1-10 és a B1-1 jelzésű mikrobatörzsek a Kelemen-szék tó üledékéből, a KC5 jelölésű törzs pedig a Balatonból vett vízmintából származik. Törzseink a 16S rDNS parciális szekvencia analízise alapján az alábbi hasonlósági értékeket mutatták a hozzájuk filogenetikailag legközelebb álló fajhoz: S5, E43 94%-os hasonlóság a *Schineria larva*hoz, D287 95%-os egyezés a *Nocardioides alkalitolerans* fajjal, a K1-5, K1-10 és a B1-1 mikrobatörzsek szintén 95%-ban egyeztek a *Bacillus cellulosilyticus* fajjal, a KC5 jelzésű törzs pedig 94%-ban mutatkozott hasonlónak a *Stenotrophomonas dokdonensis* baktériumhoz.

A továbbiakban ezen baktériumtörzsek mindegyikével elvégeztük az alapvető fenotípusos vizsgálatokat (morfológiai leírások, klasszikus biokémiai tesztek, gyorsdiagnosztikai eljárások). Ezután tanulmányoztuk kemotaxonómiai markereiket (citoplazmamembrán zsírsav és poláris lipid összetétele, sejtfalkomponensek vizsgálata és kinon analízis), továbbá egyéb DNS alapú (riboprinting, 16S rDNS teljes szekvencia analízis, bakteriális DNS G+C arányának meghatározása) vizsgálatokat is elvégeztünk.

Polifázikus vizsgálataink eredményeinek tükrében elmondható, hogy az általunk tanulmányozott baktériumtörzsek a tudomány számára új fajt/nemzetséget képviselnek. Tudományos folyóiratban (International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology) történő publikációjuk folyamatban van.

MIKROBI2-5

**Biogáz termelő mikrobióta hőmérsékletfüggésének vizsgálata molekuláris
ujjlenyomat módszerekkel**

Kiss Bence

V. biológus

ELTE TTK Mikrobiológiai Tanszék

témavezetők: Berta Brigitta PhD hallgató

Dr. Székely Anna J. tudományos segédmunkatárs

Napjainkban a szerves hulladékok mennyiségének folyamatos növekedése és a fosszilis energiaforrások rohamos apadása mellett égető igény mutatkozik új, költségtakarékos és környezetbarát eljárások kifejlesztésére, hogy fedezni tudjuk jövőbeni energiaszükségleteinket. Ezen problémákra nyújthat megoldást a szerves hulladékok anaerob rothasztása során zajló metanogenezis.

Célunk volt, hogy összehasonlítsuk a Dél-Pesti Szennyvíztisztító Telep kísérleti mezofil (35°C) és termofil (55°C) iszaprothasztóinak baktériumközösségét, valamint megvizsgáljuk a 35°C-ról 73°C-ra való lépcsőzetes felfűtés hatásait a metanogén közösségre, emellett pedig arra is választ kerestünk, vajon az adott esetben tényleg optimálisak-e az irodalmi adatok alapján megállapított üzemeltetési hőmérsékletek.

A baktériumközösség változását a 16S rRNS gén alapján, T-RFLP (Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism) módszerrel követtük nyomon. Az eredményeinket klónkönyvtárak segítségével pontosítottuk.

A mezofil és termofil reaktor közösségei gyökeresen különböznek egymástól. Előbbire jellemző a *Methanosaeta concilii*, a *Methanoculleus bourgensis* valamint egy még tenyésztésbe nem vont *Methanosarcina* sp., míg utóbbit kizárólag az utóbbi dominálja. A mezofil *Eubacteria* klónok közül a fonalas *Nostocoda limicola* illetve egy *Chloroflexi* suphylum I csoportba tartozó szekvencia a leginkább képviseltetett. A termofil reaktorra jellemző a proteinbontásban szerepet játszó, acetogén *Coprothermobacter* sp..

A mezofil reaktor fokozatos felfűtése esetében a gáztermelési görbén visszaesés tapasztalható 50°C körül, majd 55-61°C között az azt megelőző szintre emelkedik, 63°C után pedig végleg megszűnik. 61°C-ig acetoklasztikus metanogén fajok dominálnak, e hőmérséklet felett pedig egy hidrogenotróf faj kerül túlsúlyba. A metán aránya a biogázban 63°C-ig állandó, ekkor viszont megnő a H₂ és CO₂ relatív mennyisége, ami azt indikálja, hogy az acido- és acetogenezis jobban tolerálja a hőmérséklet emelését, mint a metanogenezis.

Adataink alapján elmondható, hogy míg az 55°C optimális a termofil metanogenezis esetében, addig a mezofil reaktor hőmérsékletének emelése a fajgazdagság állandósága mellett nagyobb gáztermelést eredményezhet.

MIKROBI2-6

Másodlagos metabolit-termelő *Bipolaris* törzsek összehasonlító vizsgálata

Krizsán Krisztina

V. biológus

SZTE TTK Mikrobiológiai Tanszék

témavezető: Dr. Papp Tamás egyetemi adjunktus

A *Bipolaris* nemzetség (Ascomycota, Euascomycetes, Pleosporales, Pleosporaceae) tagjai imperfekt, fonalas gombák, kozmopoliták, főként fűféléken fordulnak elő, de növényi maradványokról és a talajból is izolálhatók. Növénypatogén fajaik haszonnövények megbetegedéseit okozzák. A nemzetség egyes tagjai opportunistáknak humán és állati kórokozóként is ismertek, mint a phaeohyphomycosisok okozói.

A fajok elkülönítését hagyományos módszerekkel, a konídium morfológiájának vizsgálata (szín, alak, méret, a szeptumok száma és elhelyezkedése) alapján végzik. Ez a módszer azonban elég bizonytalan az egyes izolátumok egyedi eltérései, különböző környezeti feltételek, vagy a gyenge konídiumképzés miatt.

A dolgozat ismerteti a különböző eredetű *B. maydis*, *B. zeicola*, *B. oryzae*, *B. sorokiniana*, *B. sacchari* és *B. nodulosa* fajok összehasonlító elemzését, az rDNS szekvencia, szénasszimilációs tesztek és másodlagos metabolit termelés alapján.

Az ITS (internal transcribed spacer) régió kódolja az ITS1, ITS2 és 5.8S rDNS-t, mely PCR segítségével felszaporítható. Az így kapott DNS fragmentek szekvenálása és vizsgálata segítségével a fajok, illetve bizonyos törzsek könnyen elkülöníthetők.

A rendelkezésünkre álló izolátumokkal szénasszimilációs vizsgálatokat is végeztünk. Mintegy hetvenféle szénforrás hasznosítását vizsgáltuk. Meghatároztuk az egyes fajok, illetve törzsek által eltérően hasznosított vegyületeket. Egyes fajok szénforrástól függően jellegzetes morfológiai (alak, szín, méret) eltéréseket mutatnak.

Vizsgáltuk a *Bipolaris*ok másodlagos metabolit spektrumát, mely alapján az egyes fajok ugyancsak elkülöníthetők. Agardiffúziós tesztben tanulmányoztuk ezen metabolitok többféle baktérium és gomba elleni antimikrobiális hatását is.

MIKROBI2-7

A *Guehomyces pullulans* mitokondriális genomjának elemzése

Mikus Marianna

V. biológus

SZTE TTK Mikrobiológiai Tanszék

témavezető: Dr. Pfeiffer Ilona tudományos főmunkatárs

Élesztőgombák számára lombhullató fák tavaszi fanedvei szénhidrátban gazdag táptalajt nyújtanak. Ezen élőhely egy domináns faja a *Trichosporon pullulans*, melyet Lindner izolált először 1895-ben. Diddens és Lodder munkássága nyomán morfológiai karakter (artrospóra képzés) alapján került a *Trichosporon* nemzetségbe. Guého az 1990-es évek elején végzett rRNS D2 régiójának vizsgálata alapján megállapította, hogy a faj filogenetikailag különbözik a *Trichosporon* nemzetség többi tagjától. Eredményeit megerősítette a rDNS D1/D2 és az ITS régiók szekvencia vizsgálata, mely mutatja a faj szoros filogenetikai kapcsolatát a Cystofilobasidiales rend tagjaival. Ezek alapján Fell és munkatársai megalapozottnak látták egy új nemzetség (*Guehomyces*) létre hozását, mely *Guehomyces pullulans* néven magába foglalja az eddig *T. pullulans*-ként ismert fajt.

A mitokondriumok morfológiailag jól megkülönböztethető két membránnal ellátott organellek, melyekben az elektrontranszport kapcsolt az oxidatív foszforilációval, a folyamat ATP-t generál. A mitokondriumok saját genetikai rendszerrel rendelkeznek. A mtDNS genetikai funkciója erősen konzervált, míg szerkezete és mérete rendkívül változatos.

Csoportunkban évek óta folynak kutatások tavaszi fanedvekből izolált élesztőgombák extrakromoszómális elemei. Ennek során elkezdődött a *G. pullulans* mitokondriális DNS-ének vizsgálata is. Dolgozatomban témája ennek a munkának a folytatása. Munkám során mtDNS-t izoláltunk *G. pullulans* VKM Y-276 törzséből. A mtDNS fizikai térképét *Bam*HI és *Hind*III enzimekkel készítettük el. A genom méretét, a restrikciós fragmentumok mérete alapján 18,1 kb-ra határoztuk meg. A *Bam*HI emésztés 5 fragmentumot eredményezett, melyeket pBluescript SK vektorba klónoztunk. A fragmentumok nukleotid sorrendjének meghatározása a MTA Szegedi Biológiai Központban történt. Szekvencia homológia vizsgálatokat végeztünk, melyek alapján sikeresen azonosítottuk a NADH dehidrogenáz alegységeit, valamint a *cox1*, *cox3*, *cob*, *ATPáz9* és a nagy riboszómális RNS génjeit.

Basidiomyceta élesztőgombák mitokondriális genom szerveződéséről ezidáig kevés adat áll rendelkezésünkre. A *G. pullulans* mtDNS-e az ismert legkisebb Basidiomyceta mtDNS. Kis mérete ellenére géntartalma megegyezik a nagyobb mitokondriális genommal rendelkező fajokéval.

MIKROBI2-8

Komposztok mennyiségi és minőségi értékelése egy hazai talajon a biológiai aktivitás alapján

Rausch Péter

IV. műszaki menedzser

DF Ipari Technológiák Tanszék

témavezető: Dr. Bíró Borbála tudományos főmunkatárs

konzulens: Dr. Hári László főiskolai tanár

A dolgozatban áttekintem a komposztálás alapjait, a lejátszódó folyamatokat, a kapott termék tulajdonságait és felhasználási területeit. A komposztálásban előnyösen használható a juhtrágya. A beltartalmi értékek javítása céljából az MTA TAKI telephelyén kísérleteket folytattam különböző mennyiségű juhtrágya adagokkal és állandó mennyiségű egyéb adalékokkal. A kísérlet célja az volt, hogy összefüggéseket keressünk a talajminőség, az optimális komposzttermék előállítása, az alkalmi dózisok és a termés mennyisége között. Az alkalmazott jelzőnövény a saláta volt. A tápérték felvételét mikrobiológiai körülmények biztosítják. A trágyahasznosulás közvetett mértékére a talajban elszaporodó baktériumok száma ad felvilágosítást. A mikroorganizmusok számának meghatározását tenyészedényes kísérlettel és mikroszkópos csíraszám meghatározásos módszerrel végeztem. Az eredmények értékeléséhez az általános statisztikai összefüggéseket és a varianciaanalízis módszerét használtam. A vizsgálatok szerint a juhtrágya az adagolt mennyiséggel arányosan növeli a csíraszámot, elsősorban a baktériumok és gombák esetén, míg az oligotróf baktériumok az adalékra csak kis mértékben reagáltak.

MIKROBI2-9

Nehézfém ionok hatása különböző *Paxillus involutus* ektomikorrhiza-képző törzsek glutationstátuszára

Szilágyi Judit

IV. környezettudomány

DE TTK Mikrobiális Biotechnológiai és Sejtbiológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Pócsi István egyetemi docens

Hegedűs Nikolett Ph.D. hallgató

Környezetünk nehézfém-szennyezettsége mára olyan mértékű, hogy a bioszféra napjainkban tapasztalható pusztulásáért jelentős mértékben felelőssé tehető. Ezért egyre sürgetőbb az olyan gyakorlati megoldások keresése, amelyek a potenciális környezetszennyezési probléma kivédésére irányulnak. Az ilyen célú vizsgálatokban komoly szerepe lehet az ektomikorrhizákra jellemző nehézfém-tolerancia kutatásának, és méregtelenítési képességük kiaknázásának. A gombaköpeny ugyanis felveszi, és nagy mennyiségben akkumulálja a toxikus fémionokat, de nem adja át a gazdanövénynek. A fenti megfontolások alapján célul tűztük ki olyan ektomikorrhizaképző *Paxillus involutus* törzsek szelektálását, amely kedvező tulajdonságai révén egyszerre alkalmas a nehézfém akkumuláció molekuláris hátterének feltárására és kísérleti jelleggel felhasználható fémszennyezett talajok mikorrhizált erdősítésében.

Munkánk során négy, Európa nehézfémekkel szennyezett és szennyezetlen területeiről izolált *P. involutus* törzset vizsgáltunk meg. Meghatároztuk növekedési rátájukat, Cr(VI), Pb(II), Cd(II), Hg(II), Zn(II), és Cu(II) toleranciájukat és akkumulációs képességüket, továbbá megvizsgáltuk a hat fémion hatását a glutation anyagcserére.

Tapasztalataink szerint, nincs szoros összefüggés a termőhely fémionokkal való szennyezettsége és a törzsek fémekkel szembeni viselkedése között.

Vizsgálataink egyik meglepő gombafiziológiai eredménye, hogy a nehézfémek jelenléte megnövelte a *P. involutus* sejtjeiben a GSH/GSSG arányát. Oxidatív stressz alatt a legtöbb gombában csökken a GSH mennyisége és megnő a GSSG koncentrációja, hiszen a reaktív oxigénformák redukálása nagyrészt éppen a GSH segítségével történik. Bizonyos gombáknál, beleértve a *P. involutus*-t is, a nehézfém kezelés és az oxidatív stressz indukálja a GSH *de novo* szintézisét és a GSSG enzimatisz redukcióját. A GSH metabolizmus ezen változásai hatékonyan ellensúlyozzák a nehézfémionok GSH/GSSG mérlegére gyakorolt negatív hatásait, és segíti a gombák nehézfémekben gazdag területekhez való adaptálódását.

A *P. involutus* azon figyelemre méltó tulajdonsága, hogy nehézfémekkel szennyezett környezetben képes túltermelni a GSH-t, jól magyarázza a magas nehézfém toleranciáját. Ezért GSH túltermelő törzsek szelektálása, illetve ilyen mutánsok kifejlesztése elősegíthetné a *P. involutus* felhasználását magas stressztoleráns növény- mikorrhiza kapcsolatok létrehozásában és hozzájárulhatna a rekultivációba való bevezetéséhez is.

A nitrogén represszióban közreműködő *meaB* és *areA* gének szerepe az *Aspergillus nidulans* autolízisének szabályozásában

Szilágyi Melinda

IV. biológus

DE TTK Mikrobiális Biotechnológiai és Sejtbiológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Pócsi István egyetemi docens

Dr. Emri Tamás egyetemi adjunktus

A fonalas gombák autolízise egy aktív sejtpusztulási folyamat, amely – ipari és természetes körülmények között is – leggyakrabban a szénéhezésre adott stresszválasz részeként figyelhető meg. Az autolízis szabályozásának megismerése részben a fermentációs ipar számára nyújthat segítséget a mikrobiális folyamatok optimalizálásában, részben új típusú antifungális szerek, stratégiák felismeréséhez vezethet el. Vizsgálataink célja a számos ipari és egészségügyi szempontból jelentős *Aspergillus* és *Penicillium* fajokkal rokon *Aspergillus nidulans* autolízisének megismerése. Jelen dolgozatban a nitrogén éhezés hatását tanulmányoztuk a szénéhező tenyészetek autolízisére és ezzel összefüggésben megvizsgáltuk az *areA* és *meaB* gének szerepét az autolízis szabályozásában.

A kontroll törzsekben a szénforrás éhezés az autolízis indukálódását eredményezte. A szén- és nitrogénforrás éhezés kombinálása fokozta az autolízis sebességét, ami megmutatkozott az ipari szempontból fontos autolítikus kitinázok és proteinázok intenzív termelődésében is. Az *areA* génben defektes mutánsok minden tekintetben a kontroll törzsekhez hasonlóan viselkedtek. Szignifikáns különbségeket sem szénforrás éhezés, sem szén- és nitrogénforrás éhezés alatt nem tapasztaltunk, azaz az *areA* nem vett részt az autolízis szabályozásában a fenti körülmények között. A *meaB* génben defektes mutáns lényegesen gyorsabban autolizált a kontroll törzsekhez képest szénéhező körülmények között. A szénforrás és nitrogénforrás éhezés kombinálása azonban már csak kis mértékű, inkább csak a proteináz termelésben megmutatkozó növekedést eredményezett az autolízis sebességében. A MeaB fehérje tehát részt vett az autolízis szabályozásában és feladata feltehetőleg az, hogy kedvező nitrogénforrás ellátottság esetén fékezze az autolízist.

Az autolízist kísérő fiziológiai változások közül a γ -glutamil transzpeptidáz (γ GT) indukciójában tapasztaltunk lényeges eltéréseket a vizsgált körülmények között. Bár a szénforrás éhezés indukálta a γ GT-t, nitrogénforrás hiányában ez az indukció lényegesen gyengébb volt a kontroll törzsekben. A *meaB* gén inaktiválása (szemben az *areA* mutációjával) a γ GT indukcióját szintén gátolta. Ismeretes, hogy a γ GT részt vehet az aminosav transzportban, éppen ezért feltételezzük, hogy indukciója a táplevesben lévő szerves nitrogénforrások (peptidek, fehérjék) hasznosítását segíthette az aminosavak felvételén, és/vagy a vakuólumokba való juttatásán keresztül.

MOLEKULÁRIS BIOLÓGIA 1. TAGOZAT

MOLBIOL1-1

**CD46 izoformák meghatározása otosclerosisos és egyéb patológiai
elváltozást mutató stapes mintákban**

Csomor Péter és Gyöngyösi Eszter

V. biológus-biotechnológus; V. molekuláris biológus

DE OEC Orvosi Mikrobiológiai Intézet;

DE OEC Fül-Orr-Gégészeti és Fej-Nyaksebészeti Klinika

témavezetők: Dr. Kónya József egyetemi docens

Dr. Karosi Tamás klinikai orvos

Az otosclerosis a humán oticus capsulában megjelenő csontremodellációs zavar, amely vezetékes- és szenzorineurális halláscsökkenést okoz. Az otosclerosis kialakulásának fő etiológiai tényezője a belsőfül csontos tokjának krónikusan perzisztáló kanyaróvírus fertőzése, amely a celluláris immunválasz indukálásával kiterjedt osteoclast aktivációt eredményez. A kanyaróvírus fő celluláris receptora a CD46 molekula, amelynek eddig 14 splicing variánsa ismert. Feltételezésünk szerint az egyes izoformák oticus capsulán belüli expressziós mintázata az otosclerosis patogenezisének alapját képezheti.

Munkánk során ötvenegy műtétilag eltávolított, ankyloticus stapes mintát elemeztünk (18 férfi, 33 nő). Az otosclerosisos mintákat szövettani vizsgálattal különítettük el a pseudo-otosclerosisos stapes ankylosisoktól. A mintáinkból RNS-t izoláltunk, majd RT-PCR módszerrel elvégeztük a kanyaróvírus genom detektálását. A CD46 izoformák kimutatására a variábilis exonokat tartalmazó régiót célzó primerekkel RT-PCR-t végeztünk. Az egyes izotípusoknak megfelelő amplimereket poliakrilamid gélen szeparáltuk és gélből kivágva külön-külön tisztítottuk. A tisztított PCR termékeket egy nested primerpárral amplifikáltuk, majd az alternatív splicing által érintett CD46 exonokra specifikus restrikciós enzimekkel hasítottuk.

A kanyaróvírus RNS-t csak 21, szövettanilag otosclerosisosnak bizonyult stapes mintában tudtuk kimutatni. Ugyanazon CD 46 izoformák (c, e, d, f, és egy ismeretlen rövid variáns) voltak jelen mind az otosclerosisos, mind a pseudo-otosclerosisos stapes talpakban, azonban az otosclerosisos mintákban az "f" izoforma rendkívül magas expressziós szintet mutatott. Az "f" variáns érett mRNS-e nem tartalmazza a 13. exont, amely a fehérje citoplazmatikus régiójának egy szakaszát kódolja. Ez a domén felelős a receptor aktivációt követő másodlagos hírvivő folyamatokért. Ezen szignalizációs folyamatok hiánya vagy módosulása elősegítheti a krónikus kanyaróvírus fertőzés kialakulását, valamint magyarázhatja a kanyaróvírus oticus capsula iránt mutatott tropizmusát és a humorális immunválasz hiányát.

MOLBIOL1-2

Tumorspecifikus mikroRNS-ek a kissejtes tüdőrákban

Czimmerer Zsolt

V. molekuláris biológus

DE OEC Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet

témavezető: Dr. Scholtz Beáta egyetemi adjunktus

A mikroRNS-ek (miRNS) 20-22 nukleotid hosszúságú nemkódoló RNS molekulák, melyek részt vesznek a génexpresszió szabályozásában azáltal, hogy a target mRNS 3' UTR régiójához kapcsolódva gátolják a transzlációt, illetve bizonyos esetekben az mRNS degradációját váltják ki. Az elmúlt néhány év kutatási eredményei azt mutatják, hogy a miRNS-ek hozzájárulhatnak a tumoros transzformáció folyamatához. Ezt támasztja alá az a tény is, hogy az ismert miRNS gének 50%-a a tumorokban gyakran deletált/amplifikált kromoszóma-régiókban található. A legismertebb ilyen miRNS csoport a miR17-92 policisztron, mely régió amplifikációját ill. a kódolt miRNS-ek overexpresszióját megfigyelték B-sejtes limfómákban és kissejtes tüdőrákban (SCLC) is. A munkacsoportunk által vizsgált daganattípus az SCLC, amely egy neuroendokrin eredetű, korán metasztatizáló tumor. Célunk olyan miRNS-ek azonosítása, melyek megváltozott expressziója SCLC-ben a metasztázist elősegítheti. Az előkísérletekben munkacsoportunk összehasonlította négy SCLC sejtvonal és a normál tüdőszövet miRNS profilját, miRNS microarray technológiával. Munkám célja a microarray eredmények alapján kiválasztott miRNS-ek expressziójának további vizsgálata volt, a microarray adatok ellenőrzése, és további adatgyűjtés céljából. A kvantitatív stem-loop RT-PCR technikával vizsgáltam a kiválasztott miRNS-ek expresszióját: a) normál tüdőszövetben, b) a microarray kísérletekben használt SCLC sejtvonalakban, c) archivált, primer tumormintákban, melyekben a tumoros szövetrészeket a normál tüdőszövetből mikrodisszekcióval választottuk el. Az SCLC-ben azonos módon szabályozódó miRNS-ek közül több olyat találtam, melyek a genomi lokalizációjuk alapján feltételezhetően közös prekursor molekulával rendelkeznek. Az intronokban kódolt miRNS-ek egy részénél a gazdagításkor már leírták, hogy egyes tumortípusokban expressziójuk megváltozik, valamint a neoplasztikus transzformációval kapcsolódó funkciókat látnak el. Szekvencia-analízissel kimutattam, hogy az SCLC-ben alacsony szinten expresszálódó miR-199a és miR-214 miRNS-ek átfednek a DNMT3a nemkódoló transzkripttel, melyet eddig csak az egér embrionális fejlődése során mutattak ki. Kvantitatív RT-PCR-rel végzett kísérleteim alapján feltételezhető, hogy ez a transzkript a normál emberi tüdőben is termelődik, míg SCLC sejtvonalakban nem volt kimutatható. Annak bebizonyításához, hogy ez a transzkript szolgál-e a fenti két miRNS prekursorul, további kísérletek szükségesek.

Különböző ideig tartó szívperfúzió génexpressziós mintázatra gyakorolt hatásának vizsgálata

Faragó Nóra

IV. biológus

SZTE TTK Genetikai és Molekuláris Biológiai Tanszék

témavezető: Dr. Puskás László tudományos főmunkatárs

konzulens: Dr. Boros Imre egyetemi tanár

A klinikai gyakorlatban a mikrokeringési zavarok egyik legfontosabb csoportját az ischaemiás folyamatok alkotják. Az ischaemia, azaz a szív vérellátási zavara során a myocardium vérigénye és vérellátása közti egyensúly felborul, ami a sejtek anyagcsere-végtermékeinek csökkent eltávolításához és a tápanyagok valamint az oxigén hiányához vezet. Az ischaemiás állapotot követő reperfúzió, vagyis a keringés visszatérése következtében létrejövő reoxigenizáció, a sejteket károsító toxikus szabadgyökök képződéséhez vezethet. Vizsgálataink során a reperfúzió hatását vizsgáltuk és DNS chip technikával azonosítottuk a különböző ideig tartó perfúzió hatására represszáladó vagy over-expresszáladó géneket.

Első lépésként izolált egérsziveken Langendorff-perfúziót végeztünk, majd a szövetekből totál RNS-t izoláltunk, amit reverz transzkripcióval cDNS-sé írtunk át. A génexpressziós vizsgálatokhoz fluoreszcensen jelölt cDNS-t hibridizáltunk egér génspecifikus oligo chipre. Ezt egy lézeres detektálás követte, mely során a mennyiségi különbségek színintenzitásbeli változásokban nyilvánultak meg. Ezt követően a kapott represszált, illetve over-expresszált génekre specifikus primereket terveztünk, melyeket QRT-PCR során használtunk fel eredményeink igazolására.

Kísérleteink során elsősorban arra próbáltunk választ találni, hogy a szívperfúzió hogyan és milyen mértékben befolyásolja a génexpressziót, valamint hogyan változik ez az idő függvényében. Ilyen irányú vizsgálatokat eddig még nem végeztek, annak ellenére hogy a Langendorff-féle izolált, perfundált emlősszív közkedvelt kísérleti modell a kardiovaszkuláris kutatásban, különösen az ischaemia és a kamrai fibrilláció tanulmányozása során. Ezekhez a vizsgálatokhoz fontos lenne azonosítani azokat a géneket, amelyek közvetlenül a reperfúzió hatására változnak. Ezen adatok ismeretében fontos megfelelő kontroll kísérleteket végezni és az összehasonlítást minden esetben time-match perfúziós kontrollhoz kell viszonyítani.

Eredményeink alapján 17 olyan gént találtunk, amelyeknek nagy valószínűséggel kiemelkedő szerepük van az ischaemiás állapot kialakulása során vagy azt követően.

MOLBIOL1-4

Az interleukin-10 expresszió epigenetikai szabályozásának vizsgálata keratinocita eredtű sejtvonalakban és perifériás mononukleális sejtekben

László Brigitta és Csomor Péter

V. molekuláris biológus; V. biotechnológus

DE OEC Orvosi Mikrobiológiai Intézet

témavezető: Dr. Kónya József egyetemi docens

Az interleukin-10 (IL-10) a szervezetben lejátszódó gyulladásos folyamatokban és az immunválasz szabályozásában központi szerepet játszó antiinflammatorikus és immunszuppresszív hatású citokin. Ismert, hogy emberi többrétegű laphámban is termelődik, és fokozott kiválasztása a humán papillóma vírus (HPV) indukálta hámelváltozásokban korrelál az onkológiai progresszióval, valószínűleg a sejtes (Th1) immunválasz lokális csökkentése révén. Az utóbbi években közölt kísérletekből arra következtettek, hogy sem a humán keratinociták, sem a belőlük származó immortalizálódott sejtek nem képesek IL-10-et termelni. Az IL-10 expresszió konzervatív hiánya az emberi keratinocitákban epigenetikai inaktivációs mechanizmusokra utal.

Előzetes kísérleteinkben metilált CpG dinukleotidokat detektáltunk az IL-10 promóter proximális szakaszán primer illetve immortalizálódott keratinocita és epitéliális eredetű sejtvonalakban, míg az IL-10 termelésre képes perifériás mononukleális sejtekben a promóter metilátatlannak bizonyult. Munkánk során vizsgáltuk, hogy az IL-10 gén promóterének metilációs állapota összefüggésben áll-e expressziós aktivitásával. Első lépésként az IL-10 promóter 1063 bp és 617 bp hosszúságú szakaszait tartalmazó pGL2 luciferáz expressziós vektor-konstruktokat hoztunk létre, így lehetővé vált a promóter aktivitás mennyiségi vizsgálata. Ezt követően metilációs kazetta assay során az említett promóter szakaszokat metilált és metilátatlan állapotban tartalmazó pGL2-vektor konstruktokat hoztunk létre, majd a plazmid konstruktokkal HeLa sejteket transzfektáltunk és luciferáz assay segítségével mértük a sejtekben a metilált illetve metilátatlan IL-10 promóter fragmentek expressziós aktivitását.

Eredményeink alapján a metilált IL-10 promóter szakaszok expressziós aktivitása szignifikánsan kisebb volt a metilátatlanokénál. Tehát a CpG metiláció, mint fontos epigenetikai regulációs mechanizmus valószínűleg lényeges szerepet játszik az IL-10 gén transzkripciójának szabályozásában.

Aminosav-cserék kialakítása a GltS fehérjében

Nyári Gábor

V. biológus

SZTE TTK Biotechnológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Kálmán Miklós intézet igazgató

Szvetnik Attila tudományos munkatárs

konzulens: Dr. Rákhelyné dr. Perei Katalin tudományos munkatárs

Az *Escherichia coli* GltS fehérje egy Na^+ /glutaminsav szimporter, mely másodlagos aktív transzporttal juttatja szubsztrátját a sejtbe. A baktérium belső membránjában helyezkedik el és 401 nagyrészt hidrofób oldalláncú aminosavból épül fel. A glutamátion kívül számos glutaminsav analógot is képes transzportálni, ilyenek például a D-glutaminsav és a sejt számára toxikus α -metil-glutaminsav. A membránt tíz transzmembrán szekvenciával szeli át, és a citoplazmatikus oldalon két hosszabb hurok helyezkedik el (N- és C-hurok). A GltS homológia vizsgálat alapján a transzporter fehérjék egy különálló, kevésbé jellemzett családjába tartozik (ESS; glutamát/ Na^+ szimporter család). Munkánk célja az aktivitásért felelős aminosavak azonosítása, a szubsztrát-kötő hely meghatározása a GltS-ben, mint az ESS-család modell fehérjében.

Vizsgálataink során egy olyan fúziós fehérjét használtunk fel, amelyben az *Escherichia coli* alkalikus foszfatáza (PhoA) a GltS utolsó előtti aminosavához kapcsolódik. Ebben a hibrid proteinben mindkét fúziós partner aktív. A riporter fúzió alkalmazása kísérletes szempontból nagyon hasznos, lehetővé teszi a fúziós fehérje mennyiségének vizsgálatát, valamint a kétdimenziós szerkezet (topológia) esetleges változását is követhetővé teszi.

Homológia vizsgálat, a kétdimenziós szerkezet és internális deléciók segítségével korábban igazoltuk, hogy a legnagyobb citoplazmatikus hurok (N-hurok) funkcionális szempontból fontos terület. Ezen a régióban belül végzünk aminosav-szintű vizsgálatokat. Különböző szempontok figyelembevételével kiválasztottuk az Arg181 és Lys185 aminosavakat. Ezeken a helyeken a GltS génjében irányítottan, specifikus oligonukleotidok és PCR alkalmazásával pontmutációkat alakítottunk ki, a fenti aminosavakat külön-külön alaninra cseréltük, valamint a Lys185-öt argininre is módosítottuk. Az előállított módosított fehérjék mennyiségét Western-blottal vizsgáltuk, aktivitásukat növesztési teszttel ellenőriztük.

MOLBIOL1-6

**Antioxidatív génterápia szuperoxid dizmutáz felhasználásával ischémikus-reperfúziós
károsodás esetén**

Pálffy Roland^{1,2}, Reško Péter¹, Radvánský János¹, Roman Gardlík² és Július Hodosy^{2,3}
molekuláris biológus

Comenius Egyetem ¹TTK Molekuláris Biológia Tanszék; ²OTK Patofiziológia Tanszék; ³TTK
Fiziológia Tanszék

témavezetők: Dr. Peter Celec

Dr. Lukáč Halčák egyetemi tanár

Az angiogenezis (érképződés) meghibásodása közrejátszik a fejlett országokban két legelterjedtebb elhalálozási ok patogenezisében – ischémikus szívelváltozás és a daganatos megbetegedések. A vaszkuláris endoteliális növekedési faktor (VEGF) kulcsszerepet játszik az angiogenezis természetes és kórosan elváltozott szabályozásáért minden véredényekkel ellátott szövetben. Ennek következtében egyaránt célpontja különböző újonnan kifejlesztett rákellenes kezelési eljárásoknak valamint koszorúéri és hasonló megbetegedések gyógy módjainak. Az utóbbi években különböző kutatások bizonyították a VEGF felhasználásának lehetőségét az ischémikus szívelváltozás kezelésénél. Azonban épp a VEGF génterápia káros mellékhatásokkal jár, mivel a kölcsönhatások hálózata a VEGF és az angiogenezisben résztvevő más molekulák között nincs eléggé feltérképezve. Ezen okból kifolyólag fontos a VEGF termelésének szabályozása.

A génterápia alapja az, hogy új genetikai információt juttatunk a páciens sejtjeibe, ahol az fehérjére, vagy RNS-re íródik át. A bejuttatott DNS által kódolt információ végterméke (RNS, fehérje) a kezelés valódi hatóanyaga. A génterápia különböző lehetőségeket kínál a kívánt DNS szekvencia sejtbejuttatására, pl.: plazmidok, adenovírusok, retrovírusok, lipofekció és más. Szomatikus (testi) sejtek és ivarsejtek egyaránt kezelhetők ezzel a módszerrel, továbbá egyik nagy előnye a szövet-specifikus génexpresszió lehetősége. Azonban továbbra is megoldatlan probléma marad az expresszió szabályozása.

A mi célunk olyan bakteriális törzs előállítása volt, mely képes VEGF termelésére. Ennek elérésére az *E. coli* baktériumokat olyan plazmidokkal transzformáltuk, melyek VEGF cDNA-t tartalmaztak, baktériumfüggő promótor alatt. Ezáltal a VEGF termelése bakteriális enzimekhez volt kötve. Elméletileg az expresszió pozitív regulálását induktor segítségével lehetne megvalósítani, ezt a T7 expressziós rendszer felhasználásával akartuk elérni. Az alternatív génterápia fő előnye a negatív reguláció lehetősége. Antibiotikumok segítségével teljesen megszüntethető a terápiás gén expressziója, a baktériumok elpusztítása révén. A bakteriális VEGF termelés bizonyítására poliakrilamid gél elektroforézist használtunk. A transzformált baktériumok által előidézett angiogenezis egereken volt modellezve.

Végeredményben sikerült olyan *E. coli* baktériumokat létrehozni, melyek induktor hatására képesek VEGF termelésére és a kívánt terapeutikus eredmény elérése után antibiotikumok segítségével eltávolíthatók.

Racionális fehérjetervezés: A legrövidebb peptid, amely már fehérje

Stráner Pál

II. biológus

ELTE TTK Szerves Kémiai Tanszék

témavezetők: Dr. Hudáky Péter tudományos segédmunkatárs

Dr. Papp Márton egyetemi tanár

A triptofán-kalitka a jelenleg ismert egyik legkisebb fehérjedomén, amelynek önmagában is jól meghatározott másodlagos és harmadlagos szerkezete van. E domén legkisebb képviselője a Neidigh és munkatársai által tervezett, mindössze 20 aminosav tartalmú TC5b. Ez a minifehérje tartalmaz egy α -hélixet, egy 3_{10} -hélixet és egy poliprolin-II régiót. A molekula spontán tekeredik fel, szerkezetét egy sóhíd és egy hidrofób mag stabilizálja. Környezeti tényezőkre (hőmérséklet, pH), valamint szekvenciális módosításokra igen érzékeny.

Kutatási célunk az volt, hogy egy olyan TC5b-változatot állítsunk elő, mely magasabb hőmérsékleten is stabil. E célból tanulmányoztuk a molekula viselkedését és térszerkezetét meghatározó tényezőket három, általunk tervezett mutánsban. Mindegyik esetben a sóhidat képező aszparaginsavat cseréltük le más aminosavra, illetve aminosavszármazékokra (D9N, D9N-galaktóz, D9E). A szerkezetvizsgálathoz 2D homonukleáris NMR-spektrumokat (TOCSY, NOESY) elemeztünk, amelyeket két különböző pH-n (~3 és ~7) és hőmérsékleten (282 K és 300 K) vettünk fel.

A szerkezetek elemzéséből két fő stabilizáló tényezőt állapítottunk meg. Egyrészt fontos, hogy a tirozin és a triptofán aromás oldallánca egymás felett helyezkedjen el, és síkjaik egymással kis szöveget zárjanak be, másrészt a sóhíd hatással van a 3_{10} -hélix és a poliprolin-II régió pozíciójára.

Az általunk tervezett egyik mutáns (D9E – TC6b) a jelenleg ismert legstabilabb minifehérje, amely szobahőmérsékleten és semleges pH-n stabil térszerkezettel rendelkezik.

MOLBIOL1-8

**CFTR génbevitel hatása az apikális $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ és Na^+/H^+ exchangerek aktivitására
humán cisztás fibrózis hasnyálmirigy ductus sejtekben**

Székely Csilla és Cseppentő Tamás

IV. biológus; II. biológus

SZTE TTK Összehasonlító Élettani Tanszék

témavezető: Dr. Rakonczay Zoltán tudományos munkatárs

konzulens: Dr. Hegyi Andrea egyetemi tanársegéd

Bevezetés. A cisztás fibrózis (CF) egy halálos betegség, amelyet a protein kináz A (PKA) által szabályzott cisztás fibrózis transzmembrán konduktancia regulátor (CFTR) Cl^- csatorna génmutációja okoz. A betegség során a hasnyálmirigy vezeték sejtek HCO_3^- transzportja is károsodik. A CFTR-nak a HCO_3^- szekrécióban betöltött szerepe tisztázatlan.

Célunk a HCO_3^- transzportban részt vevő apikális $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ és Na^+/H^+ cserefolyamatok jellemzése volt CF-os és vad típusú CFTR-ral transzdukált CFPAC-1 sejtekben.

Módszerek. A poliészter membránon növesztett CFPAC-1 sejteket rekombináns Sendai vírussal (SeV) fertőztük (fertőzés multiplicitása, $\text{MOI}=3$ ill. 15), melyek tartalmazták a β -galaktozidáz (LacZ) vagy a vad típusú CFTR génjét. A $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ és Na^+/H^+ csereaktivitást az intracelluláris pH változása alapján vizsgáltuk. A transzporterek expresszióját RT-PCR és Western blot technikával, a CFTR aktivitását jodid-kiáramlással vizsgáltuk.

Eredmények. A SeV-CFTR sejtekben szignifikánsan emelkedett a CFTR kifejeződése és aktivitása. Ezzel szemben nem tudtunk változást kimutatni a Na^+/H^+ cserélő 2-s és 3-s izoformájának, a $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ cserélő 2-s izoformájának, valamint a DRA és a PAT-1 anioncserélők mRNS-ének expressziójában. A vad típusú CFTR szignifikánsan fokozta a sejtek apikális Na^+/H^+ csereaktivitását. A SeV-CFTR csoportokban megjelent a $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ csere, amely a $\text{MOI}=3$ csoportban tovább növelhető volt (kb. 340%-kal) cAMP-stimuláló koktéllal. A cAMP-stimulálta $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ csere gátolható volt az anioncsere-blokkoló $\text{H}_2\text{-DIDS}$ -szel, illetve a CFTR inhibitor niflumáttal és difenil-2-karboxil-savval. A PKA katalitikus alegysége jelen volt minden csoportban, de nem tudtunk detektálni PKA aktivitást a SeV-CFTR $\text{MOI}=15$ sejtekben.

Következtetések. Eredményeink azt mutatták, hogy a vad típusú CFTR fokozta az apikális $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ és Na^+/H^+ cserét a CFPAC-1 pancreas ductus sejtekben. A CFTR Cl^- transzportja szükséges a $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ cseréhez. Kísérleteink felvetik a vírus alkalmazását a HCO_3^- szekréció helyreállításában CF-os hasnyálmirigy sejtekben.

Mi az importin- β szerepe az osztódó, és a nem osztódó sejtekben?

Szikora Szilárd

V. biológus

SZTE TTK Molekuláris Biológia és Genetika Tanszék

témavezetők: Villányi Zoltán PhD hallgató

Dr. Szabad János egyetemi tanár

konzulens: Dr. Boros Imre tanszékvezető egyetemi tanár

A *Drosophila melanogaster* *Ketel* génjét Szabad János és csoportja azonosította. A *Ketel* gén 884 aminosav hosszú fehérjetermékéről kiderült, hogy 78%-ban hasonló a humán importin- β transzportfehérjével (Lippai *et al.* 2000, *Genetics* **156**: 1889). A *Ketel* fehérje cNLS-függő transzportképességgel rendelkezik, amely bizonyítja az importin- β családba való tartozását. Megmutatták azt is, hogy a *Ketel* fehérje részt vesz a sejtmaghártya összeszerelésében és a mikrotubulusok stabilizálásában (Timinszky *et al.* 2002, *J. Cell Science* **115**: 1675; Tirián *et al.* 2003, *European Journal of Cell Science*, **82**: 351.). Érdekes, hogy a *Ketel* promóterrel fuzionált *LacZ* gént tartalmazó harmadik stádiumú transzgénikus lárvában csak a mitotikusan aktív szövetekben észlelünk promóteraktivitást (Tirián *et al.* 2000, *Genetics* **156**: 1901.). Muslicában csak egy *importin- β* gén létezik, sejtmagi fehérje importnak azonban a lárvális szövetekben is lennie kell. Ennek az ellentmondásos ténynek eredtünk nyomába.

Az én munkám az volt, hogy meghatározzam hol, és mikor kapcsol be a *Ketel* gén az embrióban. Nyomon követtem a *Ketel* gén expresszióját a teljes és csonkolt promóter-*LacZ* fúziós transzgének segítségével a fejlődő embrióban. Eredményeimet összevetettük egy helyben GFP-vel megjelölt (GFP csapdázott) *importin- β* allél által szolgáltatott információval. Vizsgálataink azt az elméletet látszanak alátámasztani, hogy hiába nincs transzkripció a lárvális szövetekben a *Ketel* génről, a fehérje olyan magas perduranciával rendelkezik, hogy az embrióális korban minden sejtben termelődő fehérje jelen van a harmadik stádiumban lévő lárva valamennyi sejtjében és ellátja funkcióját.

MOLBIOL1-10

A 7q31-es lokusz genetikai alterációi humán malignus melanomákban

Vízkeleti Laura

V. molekuláris biológus

DE OEC NK Biomarker Analízis Tanszék

témavezetők: Dr. Balázs Margit egyetemi tanár

Rákossy Zsuzsa PhD hallgató

A 7q31-qter szakasz eltérését számos daganattípusban megfigyelték. Deléciója a régió elhelyezkedő tumorsuppresszorgének elvesztésével (pl. *ST7*), többlete onkogének (pl. *MET*) amplifikációjával asszociálódik, ami a sejtciklust szabályozó jelátviteli folyamatokban okoz zavart. A 7q31-es régió melanoma progresszióban betöltött szerepe kevésbé ismert. Tekintettel arra, hogy a teljes genom átfogó analízisét lehetővé tevő komparatív genom hibridizációval a 7q31 eltérése gyakori melanomákban, célunk volt az eltérések sejtszintű vizsgálata, az alterációk és a melanomák progressziója közötti kapcsolat elemzése.

Vizsgálataink során 42 primer tumort és 13 melanoma metasztázist analizáltunk fluoreszcencia *in situ* hibridizációs (FISH) technikával 7q31-es lokusz és 7-es centoméra specifikus DNS próbák alkalmazásával. A vizsgált daganatokban a 7q31 szakasz DNS többletét illetve hiányát egyaránt megfigyeltük. A 7-es centromérához viszonyítva a 7q31-es régió extra-kópiaszámát a primer melanomák 52%-ában (22/42), delécióját 21%-ban (9/42) mutattuk ki. A 7q31 amplifikációja jellemezte a metasztatizáló, illetve a rosszabb prognózisú noduláris altípusba tartozó tumorokat. Négy mintában a lokusz nagymértékű amplifikációját (>50 kópia/sejt) figyeltük meg, ezek a daganatok 1 éven belül áttétet képeztek. A 7q31 régió többlete a 7-es kromoszóma poliszómiájával társult ($p=0,008$). A 7q31 deléciót elsősorban a jobb prognózisú, a követési időn belül nem metasztatizáló melanomáknál mutattunk ki. A melanoma metasztázisok több mint 90%-át (12/13) a 7-es poliszómiája jellemezte. Négy mintában a lokusz delécióját figyeltük meg, további 9 metasztázisban a 7q31-es régió DNS többletét mutattuk ki, ez 2 daganatban nagymértékű amplifikációt jelentett. Microarray alapú génexpressziós vizsgálatainkkal a 7q31-es régió számos gén expressziós szintjében eltérést találtunk a kontrollhoz képest. A lokuszon elhelyezkedő *c-met* onkogén magas expressziója jellemezte az előrehaladott stádiumú daganatokat. A *c-met* amplifikációja és overexpressziója számos daganatban rossz prognózissal társul, ez a megállapítás a melanomákra is igaznak tűnik.

Eredményeink szerint a 7q31-es régió számbeli eltérései kapcsolatban állnak a melanoma progresszióval, a daganatok metasztatizáló hajlamával, továbbá módosítják az itt lokalizálódó gének expresszióját.

MHC I organizáló szerepe T sejtek fehérjeklasztereinek szerveződésében

Volkó Julianna és Mocsár Gábor

V. biológus-biotechnológus; V. fizikus

MTA-DE Sejtbiológiai és Jelátviteli Kutatócsoport

témavezető: Dr. Vámosi György tudományos főmunkatárs

A sejtmembrán fehérjei többnyire nem magányosan, hanem funkcionális komplexekben fejtik ki hatásukat. Az antigénprezentációban fontos szerepet betöltő MHC I és MHC II (fő hisztokompatibilitási komplex I. és II. osztályába tartozó) molekulák humán limfocitákon homo- és heteroklasztereket alkotnak. Ezekkel számos membránfehérje kölcsönhat, köztük az interleukin-2 és interleukin-15 receptorok. A T-sejtek sorsát befolyásoló IL-2R és IL-15R közös jelátvivő béta és gamma-c alegységgel, ugyanakkor saját alfa-lánccal rendelkeznek, és az általunk vizsgált FT7.10 T limfóma sejtvonalon feltehetően heterotetramer struktúrát alkotnak.

Kíváncsiak voltunk arra, hogy milyen hatással lesz a receptor alegységek kölcsönhatására az, ha a receptor szuperklaszter legjobban kifejeződő tagjának, az MHC I-nek a mennyiségét minimálisra csökkentjük. Ezért az MHC I expresszióját leszabályoztuk RNS interferencia segítségével. Optimalizáltuk az elektroporátorral végzett transzfekció körülményeit: az siRNS koncentráció-függést és a transzfekciós protokollt, és megvizsgáltuk a kezelés után eltelt idő befolyását a génexpresszióra. Áramlási citometriás fluoreszcencia rezonancia energia transzfer (FRET) méréseket alkalmaztunk a vizsgált fehérjék molekuláris közelségének ill. egymáshoz viszonyított helyzetének megállapítására, molekuláris mobilitásukat pedig fluoreszcencia korrelációs spektroszkópiával vizsgáltuk.

Az MHC expresszió csökkenésének hatására az MHC I molekulák homoasszociációját, illetve az IL-2R alfával és az IL-15R alfával történő heteroasszociációját jellemző FRET határfok szignifikánsan csökkent, továbbá a két interleukin receptor alfa alegységének kölcsönhatása is gyengült. FCS méréseink igazolták, hogy csökkentett MHC I expresszió mellett mind az IL-2R alfa, mind az IL-15R alfa diffúziós ideje csökkent, azaz megnőtt a molekulák mobilitása. Ez arra enged következtetni, hogy az MHC I központi szervező szerepet tölt be a fent említett szuperklaszterben. Kísérleteink rávilágíthatnak az MHC glikoproteinek eddig kevésbé vizsgált funkciójára egyes transzmembrán jelátviteli komplexek szerkezetének kialakításában és stabilizálásában.

MOLEKULÁRIS BIOLÓGIA 2. TAGOZAT

A levélaldehid génexpresszióra kifejtett hatása

Amrein Krisztina

V. biológus

PTE TTK

témavezető: Dr. Ember István

A daganatos betegségek kialakulását befolyásoló tényezők között fontos szerepet játszik a táplálkozás, amely az élelmiszerekben előforduló karcinogén és antikarcinogén komponensekre irányítja a figyelmet.

Kísérleteink tárgya, a *transz-2-hexenal*, egy növényi eredetű aldehid, mely több élelmészetre is használt növényben előfordul (gyümölcsök, hüvelyesek, káposztafélék), jellegzetes illatáért a kozmetikai ipar is előszeretettel alkalmazza. Fizikai tulajdonságát tekintve színtelen, viszkozus folyadék, kémiaileg telítetlen karbonil vegyület. Hasonlóan az analóg szerkezetű krotanaldehidekhez Ames tesztben és SCE-ben genotoxikusnak bizonyult, citotoxicitását több tanulmányban is megemlíti. Hosszútávú kísérletekben DNS adduktképző hatását is kimutatták, karbonil csoportjának köszönhetően *1,N²-propano-dezoxi-guanozin* exociklikus adduktot képez, így feltehetőleg a humán karcinogenezisben is szerepet játszik. Rövidtávú kísérleteink során nem tapasztaltunk szignifikáns overexpressziót a p53 és Ha-ras esetében az oltást követően 24, 48 és 72 órával.

Célkitűzések: Kísérleteink során a *trans-2-hexenal*, génexpresszióra gyakorolt hatását vizsgáltuk állatkísérletes modellben 3, 6, 12 és 18 órával az expozíció után.

Célunk, hogy meghatározzuk a kísérleti vegyület Ha-ras onkogén és a p53 tumor szuppresszor gén expressziójára kifejtett hatását, a PTE ÁOK Orvosi Népegészségtani Intézetben kifejlesztett "short term" tesztrendszer segítségével.

Anyag és módszer: A vizsgálatainkhoz csoportonként 6-6 db egeret (CBA/Ca H-2^k). Az állatokat intraperitonealisan oltottuk 50 mg/ttk dózisú hexenállal. Az expozíciót követő 3, 6, 12 és 18. órában az egereket felboncoltuk és szerveikből mRNS-t izoláltunk és hibridizáción alapuló technikával meghatároztuk a p53 szuppresszor gén és Ha-ras onkogén expresszióját.

Eredmények, következtetések: A feltételezett epigenetikus hatás további vizsgálatára végzett 3, 6, 12 és 18 órás kísérleteink során a különböző szervekben eltérő mintázatú génexpressziós profilt találtunk, mely nem bizonyítja a hexenal hatásmechanizmusát. További vizsgálatok szükségesek, I. és II. fázisú metabolizáló enzimekre gyakorolt hatását kívánjuk feltérképezni a közeljövőben.

MOLBIOL2-2

UV- B sugárzás által okozott DNS károsodás mértékének meghatározása real-time PCR segítségével

Asztalos Emese

V. biológus

SZTE TTK Biotechnológia Tanszék

témavezető: Dr. Kós Péter tudományos munkatárs

konzulens: Dr. Rákhely Gábor egyetemi docens

A Nap ultraibolya sugárzása minden élő szervezetre káros. Az UV fény által a DNS-ben okozott hibák gátolják a gének kifejeződését és a DNS replikációt, mert az adott fehérje-komplexek nem képesek áthaladni rajtuk.

DNS károsodás mértékének meghatározására több módszert használnak a gyakorlatban. Ilyenek a „Comet assay”, alkalikus gélelektroforézis, PCR radioaktív mennyiségi meghatározással.

A Comet assay eukariótákon alkalmazható jól, prokarióták esetében nem túl informatív, mert csak egy, az eukariótákéhoz képest kisméretű kromoszómájuk van. Így ez a módszer nem használható széles körben.

Az alkalikus gélelektroforézist használó módszer esetében az izolált genomi DNS-t olyan enzimmel kezelik, ami a hibák mellett hasít, majd denaturáció után megfuttatják lúgos gélen. A károsodott DNS „smear”-es lesz. A smear méretéből lehet következtetni a hibák számára.

A PCR- t használó módszerek alapja, hogy a DNS-ben lévő hibák gátolják a DNS polimerázokat, így a PCR reakcióban egy hibához érve megáll a *Taq*- polimeráz és nem képződik termék. A radioaktív mennyiségi meghatározást használó módszer során multiplex PCR reakcióban négy primer segítségével amplifikálnak fel két terméket. A kiértékeléshez radioaktív mennyiségi meghatározás szükséges.

Munkánk során célul tűztük ki egy olyan módszer kidolgozását, amivel a jelenleg alkalmazott módszerekhez hasonló érzékenységgel, viszonylag egyszerűen és radioaktív izotópok használata nélkül határozható meg az UV sugárzás okozta DNS károsodás.

A mi módszerünk ugyanezen az előbbi PCR- módszer elvén alapul, de nem tartalmazza radioaktív izotópok használatát. A radioaktív mennyiségi meghatározás helyett használható kvantitatív PCR technika, amelyben a PCR index, a genom két bizonyos szakaszáról készült intakt kópiák számának aránya alkalmas a DNS károsodásának mérésére. A PCR index változása függ az amplikon hosszától. Hosszabb amplikonon több lehetséges dimer hely van, így több hiba keletkezik, hosszabb amplikonnal pontosabban tudunk mérni. Ehhez a módszerhez nem szükséges izolálni a genomi DNS- t, a PCR egész sejteken is elvégezhető, az izolált DNS-sel végzett reakcióhoz hasonló eredménnyel.

A NiFe hidrogenázt kódoló *hup* operon komponenseinek funkcionális és transzkripcionális jellemzése *Thiocapsa roseopersicina*-ban

Balogh Tímea

V. biológus

SZTE TTK Biotechnológia Tanszék

témavezetők: Dr. Rákhely Gábor egyetemi docens

Dr. Kovács L. Kornél egyetemi tanár

A *Thiocapsa roseopersicina* BBS a Chromatiaceae családba tartozó fototróf, bíbor kénbaktérium. Legalább három, stabilitásában, lokalizációjában és funkciójában is eltérő hidrogenáz enzimmel rendelkezik, melyek az aktív centrum fémtartalma alapján a [NiFe] hidrogenázok közé tartoznak. Ezek közül kettő membránkötött (HynSL-Isp1,2, HupSLC), míg a harmadik a citoplazmában elhelyezkedő szolubilis hidrogenáz (HoxEFUYH). A Hyn és Hox enzim *in vivo* a H₂ felvételében és fejlesztésében egyaránt részt vesz, míg a Hup hidrogenáz főként a hidrogén oxidációjában fontos (hup=hydrogen uptake).

A *hup* locus hét gén építi fel. Ezek közül a *hupS* és *hupL* az enzim kis és nagy alegységét kódolja. A *hupSL* génektől 3' irányban szekvencia homológia alapján kisegítő géneket (*hupCDHIR*) is azonosítottak, melyek egy részének funkciója jól meghatározott. A *hupC* egy citokróm-b típusú fehérjét kódol, amely az elektron transzport folyamatában vesz részt, a HupD az érés során a HupL C-terminális végét lehasító proteáz. A HupR regulátor fehérje egy több komponensű szignál transzdukciós lánc eleme. A HupH és HupI fehérjék szerepe jelenleg még kevésbé ismert.

Munkám célja így a HupH és HupI fehérjék funkciójának jellemzése, valamint a *hup* locusban elhelyezkedő gének transzkripció vizsgálata. A gének más mikroorganizmusokban történő vizsgálataiból származó adatok alapján valószínűsíthető, hogy a HupH a kis alegységhez kapcsolódva annak membránhoz történő transzlokációjában vesz részt, míg a HupI egy, az elektron transzfer folyamatában szerepet játszó rubredoxinszerű fehérje.

A HupH és HupI fehérjék *T. roseopersicina*-ban történő karakterizálásának érdekében a géneket érintő, a leolvasási keretet nem sértő deléciós mutánsokat hoztam létre. A mutációk fenotípusos hatását *in vivo* és *in vitro* hidrogenáz enzimaktivitás méréssel vizsgálom. Emellett a génekről képződő HupH és HupI fehérjék C-terminális végét Flag illetve StrepII oligopeptidekkel fuzionáltattam, így lehetőség nyílik a velük specifikus kölcsönhatást kialakító fehérjék affinitás kromatográfiás tisztítására is. A *hup* gének transzkripcionális szerveződésének vizsgálatát reverz transzkripció kapcsolt PCR-rel végeztem és bizonyítottam, hogy a *hupSLCDHI* gének egy operont alkotnak.

MOLBIOL2-4

Poliklonális ellenanyag készítése a *Thiocapsa roseopersicina* BBS Hup hidrogenázának nagy alegysége ellen

Dányi István

V. biológus

SZTE TTK Biotechnológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Rákhely Gábor egyetemi docens

Dr. Kovács Kornél egyetemi tanár

A hidrogenázok archeobaktériumokban, valódi baktériumokban, valamint kezdetleges eukariótákban található redox enzimek, melyek a molekuláris hidrogén reverzibilis oxidációját ($H_2 \rightleftharpoons 2p^+ + 2e^-$) katalizálják. A hidrogenáz enzimek ígéretes megoldást jelenthetnek a globális energia problémákra.

A [NiFe] hidrogenázok minimálisan egy nagy és egy kis alegységből álló heterodimer enzimek. Az aktív centrum a nagy alegységben található, egy nikkell és egy vas atomot tartalmaz. A kis alegységben az elektron transzportért felelős FeS kockák találhatóak.

A *Thiocapsa roseopersicina* BBS egy fototróf, bíbor kénbaktérium, amely legalább három [NiFe] hidrogenázt tartalmaz. Hidrogenázai közül kettő membrán kötött (HynSL, HupSL), míg a harmadik a citoplazmában lokalizált (HoxEFUYH).

A Hup típusú hidrogenázok élettani szerepe nitrogén fixáló körülmények között a nitrogénáz enzimkomplex által termelt hidrogén visszavétele (hup=hydrogen uptake). *Thiocapsa roseopersicina*-ban a Hup hidrogenáz heterodimer komplexét a kis alegység (HupS) és a nagy alegység (HupL) alkotja. A struktúrgének környezetében számos más *hup* gén is megtalálható, melyek által kódolt fehérjék a HupSL hidrogenáz érésében, regulációjában és feltételezhetően *in vivo* funkciójának betöltésében játszanak szerepet. Csoportom egyik célja a HupSL hidrogenáz expressziójának, érésének illetve funkciójának vizsgálata, amely ellenanyag alkalmazását igényli.

Munkám során célom a HupSL hidrogenáz nagy alegysége elleni poliklonális ellenanyag elkészítése volt. Ehhez a HupL enzimet *E. coli*-ban termeltettem, majd két nyúlban poliklonális ellenanyagot termeltünk ellene. Az ellenanyagot tisztítás után ELISA és Western-blot kísérletekben teszteltem.

A *Thiocapsa roseopersicina* BBS Hyn hidrogenázának felépítésében részt vevő elektron transzfer alegységek vizsgálata

Győri Edit

V. biológus

SZTE TTK Biotechnológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Rákhely Gábor egyetemi docens

Dr. Kovács Kornél tanszékvezető

A hidrogenáz enzimek a $2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \leftrightarrow \text{H}_2$ reakciót katalizálják. A hidrogén termeléssel a sejt a felesleges elektronok sejtén kívülre jutását teszi lehetővé, míg a hidrogén felvétele energiatermelési, illetve megőrzési lehetőség a sejt számára. A hidrogenázok minimum két alegységes enzimek. Az úgynevezett nagy alegység tartalmazza a heterobinukleáris fémcentrumot, amely az enzimaktivitás központja. A kis alegység felelős az elektron szállításért az enzim aktív központja és felszíne között.

A *Thiocapsa roseopersicina* BBS egy anaerob, fototróf, bíbor kénbaktérium. Anaerob növekedése során redukált kénformákat hasznosít (szulfid, tioszulfid, elemi kén), de sötétben, szerves anyagokon is képes szaporodni (pl. cukor, acetát). Legalább két membránkötött (Hyn és Hup) és egy szolubilis (Hox) [NiFe] típusú hidrogenázt tartalmaz.

A Hyn hidrogenáz rendkívül nagy stabilitást mutat hővel és oxigénnel szemben is. Ez a tulajdonsága alkalmassá teszi biotechnológiai hasznosításra. A Hyn hidrogenáz struktúráját kódoló gének a NiFe hidrogenáz gének nagy többségétől eltérő elrendeződést mutatnak, ugyanis a kis és nagy alegység génjét két *orf* szakítja meg, az *isp1* és *isp2*. Transzkripcióanalízissel korábban bizonyítottuk, hogy a négy gén együtt íródik át, továbbá T7 expressziós rendszerrel sikerült mind az *Isp1*, mind az *Isp2* fehérjét expresszálni. A nukleotidsorrendből származtatott géntermékekről számítógépen analízis alapján kiderült, hogy az *Isp1* öt transzmembrán hélixet tartalmaz, és a citokróm-b típusú fehérjékkel mutat nagyfokú homológiát, az *Isp2* pedig szolubilis fehérje és feltehetően a heterodiszulfid redukázok közé tartozik.

A gének genomi elrendeződése és transzkripcionális szerveződése azt sugallja, hogy a náluk átíródó fehérjék funkcionálisan kapcsolatban állnak. Az *isp* gének delécioja nem okozott hidrogenáz aktivitás változást *in vitro*, azonban az enzim *in vivo* aktivitását megszüntette. Ez az *Isp* fehérjék szerepét bizonyítja a Hyn enzim aktivitásában.

Munkám során az *Isp1* és *Isp2* fehérjék túltermeltetését, illetve poliklonális ellenanyag készítését tűztem ki célul, melyek az *Isp* fehérjék mélyrehatóbb vizsgálataihoz használhatóak. Az *Isp2* fehérjében számos konzervatív aminosavat tudtam azonosítani. A konzervatív aminosavakra *Isp2* pontmutációkat hoztam létre irányított mutagenézissel, és a mutációt hordozó Hyn hidrogenáz aktivitását *in vivo* és *in vitro* körülmények között vizsgáltam.

MOLBIOL2-6

A *Drosophila* 26S proteaszóma ubiquitin-kötő receptorára fajlagos monoklonális ellenanyagok epitópjainak feltérképezése

Hambalkó Szabolcs

IV. biológus

SzTE TTK Genetikai és Molekuláris Biológiai Tanszék

témavezető: Dr. Udvardy Andor tudományos tanácsadó

konzulens: Dr. Boros Imre Miklós egyetemi tanár

Eukarióta szervezetekben a sérült, funkciót veszített és rövid féléletidejű fehérjék 80-90%-ának szelektív lebontása az ubiquitin-proteaszóma útvonalon keresztül valósul meg. *Drosophila melanogaster*-ben a multiubiquitilált fehérjék felismerését és megkötését a 26S proteaszóma p54 alegysége végzi.

Munkám során azt a feladatot kaptam, hogy a laborban korábban előállított, a p54-re fajlagos monoklonális antitesteket felhasználva feltérképezsem azok epitópjait a proteínláncban. A labor korábbi eredményeiből tudtuk, hogy a 6 antitest közül 5 a fehérje C-terminális, harmadlagos szerkezet nélküli (a p54 legimmunogénebb) feléhez kötődik, egyről pedig nem voltak pontos adataink.

Első lépésként a p54 C-terminális szakaszának négy különböző hosszúságú darabját és a teljes hosszúságú N-terminális szakaszt kellett létrehoznom. *In silico* megtervezett, majd megsztetizáltatott oligonukleotidok felhasználásával, PCR technika segítségével előállítottam és amplifikáltam a célfehérjéket kódoló cDNS-t. Következő lépésként a cDNS-eket pGEX-4T.1 alapú vektorba, GST és FLAG szekvenciák közé illesztettem, majd a rekombináns plazmidokat kompetens DH5α *E. coli* törzsbe transzformáltam. A létrehozott kettősen címkézett kiméra fehérjéket Western Blot technika felhasználásával epitóp térképezésre használtam.

Az immunreakciók és a labor korábbi eredményei alapján két antitest epitópját nagy pontossággal (3 és 16 aminosav) sikerült bepozicionálni, a többi helyét pedig egy kb. 90 aminosav hosszú régióra szűkítettem a p54 C-terminális régiójának utolsó szakaszára.

Ezek az *in vitro* kísérletek adják meg az alapot a jövőbeni *in vivo* vizsgálatokhoz, amelyekben a p54 különböző hosszúságú szakaszait expresszálni képes transzgénikus *Drosophilákkal* dolgozhatunk. Segítségükkel vizsgálhatóak lesznek a p54 poszttranszlációs módosításai és extraproteasomális funkciói, melyek választ adhatnak a p54 receptor vitatott működésére és szerepére.

A *Drosophila* CTD foszfatáz promóterének analízise

Horváth András

V. biológus

SZTE TTK Genetikai és Molekuláris Biológiai tanszék

témavezetők: Tombácz István

Dr. Boros Imre egyetemi tanár

Az RNS polimeráz II (RNAP II) C-terminális domain-je (CTD) fontos szerepet játszik a transzkripció menetében. A C-terminálison tandem ismétlődő heptapeptid szekvenciákban (YSPTSPS) a 2-es és az 5-ös szerin foszforilált állapotban lehet. A foszforiláltság több faktoron is múlik, egyes transzkripciós faktorkok, mint a TFIIF foszforilálják, míg az eddig legjobban ismert CTD foszfatáz, az Fcp1 defoszforilálja. Az RNAP II hiperfoszforilált formája, az RNAP IIO szükséges a transzkripció elongációjához, míg a defoszforilált forma, az RNAP IIA képes csak kapcsolódni az iniciációs komplexhez. A foszforiláltság tehát befolyásolja az RNS polimeráz működését a transzkripcióban. A termináció után a DNS-ről levált RNAP IIO formát az Fcp1 terminális foszfatáz defoszforilálja, hogy az iniciációhoz rendelkezésre álljon az RNAP IIA forma, azaz a reiniciációban van szerepe.

Az Fcp1 homológjait főleg élesztőben, és emberben tanulmányozták. Ez a dolgozat a *Drosophila* Fcp1 homológjának promóterével kapcsolatos vizsgálatokat ismerteti.

Az Fcp1 homológot a FlyBase adatbázisból lett azonosítva (CG12252), a feltételezett promótert PCR-rel amplifikáltam. A fragmentumot olyan riporter plazmidokba ligáltam, melyekben β -gal, GFP vagy luciferáz promótereként működhet. Aktivitását S2 és HeLa sejtekben kimutattam. A promóter fragmentumból rövidített változatot is készítettem, melyben a transzkripciós startponttól távolabbi részletet távolítottam el. A rövidített fragmentumot szintén GFP riporter plazmidban vizsgáltam, és azt tapasztaltam, hogy a delécia csökkentette a riporter expresszióját a teljes promóter fragmentumhoz képest. Tehát a deletált szekvenciában valószínűleg fontos transzkripciós faktorkok kapcsolódási helyei lehetnek.

A promóter szekvenciát TFSEARCH, és a TRANSFAC adatbázis alapján analizáltam, mellyel az esetleges transzkripciós faktorkok kötőhelyeit kerestem. A számítógépes, és a kísérleti eredményeket összevettem. A deletált fragmentumhoz kapcsolódhatnak broad-complex, bicoid, deformed, és Elf-1 faktorkok, tehát ezek közül egy vagy több is fontos lehet a promóter aktivitásához.

További lehetőség az egyes faktor kötőhelyek, és a többi nem deletált faktor kötőhelyeinek eltávolítása, így pontosabb képet kapunk az Fcp1 átíródásának szabályzásáról.

MOLBIOL2-8

**A Dél-Dunántúlon kitört hepatitis A járvány
molekuláris biológiai nyomon követése és elemzése – 2006**

Pankovics Péter
V. biológia-kémia
PTE TTK

témavezető: Dr. Reuter Gábor
konzulens: Dr. Putnoky Péter

A hepatitis A vírus (HAV) az egész világon elterjedt, gyakori kórokozó. A vírus okozta fertőző májgyulladás (hepatitis) változó súlyosságú, a tünetmentes fertőzéstől a halálos kimenetelű megbetegedésig változhat. A HAV-nak 7 genotípusa (I-VII) van. Az IA szubgenotípus endémiás Kelet-Magyarországon.

A HAV-fertőzés szerológiai diagnosztikája rutin laboratóriumi eljárás, de a molekuláris biológiai módszerek e vírus esetében is új eszközöket adnak a járványügyi felderítő munkában.

A HAV európai molekuláris epidemiológiai vizsgálatainak részeként, a HAV fertőzés szempontjából nem endémiás Dél-Dunántúlról, ismeretlen eredetű hepatitisben szenvedő betegektől szérummintákat gyűjtöttünk 2006. június és november között, prospektív módon. A mintákat ELISA módszerrel vizsgáltuk, majd a HAV IgM-pozitív mintákból, a virális VP1/2A kapcsoló régió felszaporozását RT-PCR módszerrel végeztük. Szekvenálást majd filogenetikai elemzést végeztünk.

Összesen 94 (59 nő; 62,8% és 35 férfi; 37,2%; χ^2 , $p < 0,001$) beteg szérummintája tartalmazott HAV IgM típusú ellenanyagot. RT-PCR módszerrel 23 (82,1%) mintából sikerült megfelelő méretű terméket kapni. A szekvenált 14 mintából genetikailag 100%-ban azonos IB szubgenotípusú vírus volt kimutatható, mely azonos egy 2002-ben, Olaszországban leírt, újonnan megjelent vírussal (IT-MAR-02) és genetikailag eltér a hazánkban endémiásan jelen lévő HAV-októl. Eddig 13 településen fordultak elő megbetegedések. Istvándiban minden 12. lakos megbetegedett (56 beteg/675 exponált; 8,3%). A fertőzés átvitelében a közvetlen kontaktusnak, a megbetegedés halmozódásában a rossz szociális és higiénés körülménynek volt szerepe. Az átlagéletkor 16,3 év (1-80 év) volt. Kórházi kezelés minden betegnél történt, egy fertőzés (1,2%) halálos kimenetelű volt. Eddig több mint 2500 oltóanyagot használtak fel.

Molekuláris epidemiológiai vizsgálataink tárták fel, hogy a kezdeti szórványos HAV esetek egy kibontakozó és Istvándiban tömeges megbetegedést okozó, összefüggő HAV-járvány részei voltak. A Dél-dunántúlon a HAV fertőzés szempontjából nem-endémiás területen egy behurcolt HAV cirkulál, mely az elmúlt években fogékonnyá vált és a védtelen populációt veszélyezteti. A járvány felszámolásában a HAV elleni aktív oltásnak fontos szerepe lenne.

A *Drosophila* Fcp1 *in vivo* funkciójának vizsgálata

Schauer Tamás

IV. biológus

SZTE TTK Genetikai és Molekuláris Biológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Boros Imre egyetemi tanár

Dr. Komonyi Orbán egyetemi adjunktus

Az eukarióta transzkripció szabályozásában kiemelt szerepet játszik az RNS polimeráz II (RNAPII) C terminális doménje (CTD) foszforilációs állapotának változása. A transzkripció iniciációjában az RNAPII hipofoszforilált formája vesz részt. Az elongáció megkezdéséhez foszforilálódnia kell a CTD-nek, számos ebben a folyamatban szerepet játszó kinázt azonosítottak. A transzkripció végén a hiperfoszforilált RNAPII defoszforilálódik, mely folyamat szükséges az enzim reciklizációjáért. Ezt katalizálja a TFIIF asszociált CTD foszfatáz, az Fcp1. Az Fcp1 az eukariótákban konzervált protein foszfatáz. Esszenciális az élesztő túléléséhez, inaktiválása a transzkripcióra negatív hatással van.

Feladatom a *Drosophila melanogaster* Fcp1 (DmFcp1) *in vivo* funkciójának vizsgálata. Ehhez kiválóan alkalmas a foszfatáz intracelluláris szintjének megváltoztatása. A szárnyban történő túltermelés, és lecsendesítés esetén is csökevényes szárnyfenotípust, ill. letalitást tapasztaltam. Ennek sejtszintű vizsgálatára a pusztuló sejteket megjelölő acridine orange festést végeztem imaginális diszkuszon, mellyel sejthalált mutattam ki. Ugyanilyen genotípusú diszkuszon a mitotikus sejteket is megfestettem immunhisztokémiai módszerrel, ám a megváltozott DmFcp1 szint nem befolyásolja a mitotikus sejtek számát.

Az apoptózis kimutatása után azt vizsgáltam, hogy a p53 tumorsuppresszornak van-e szerepe ebben a sejthalálban. Ehhez domináns negatív hatású p53-at expresszáltattam, miközben az Fcp1-et lecsendesítettem. Eredményül azt kaptam, hogy a mutáns p53 erősíti az Fcp1 hiányában bekövetkező fenotípust.

Epitóppal jelölt Fcp1-Flag túltermelését biztosító transzgenikus állatokban western blot kísérletben kimutattam az Fcp1-Flag fúziós fehérje termelődését. Immunfestéssel sejtmagi lokalizációt tapasztaltam lárvális szövetekben. Politén kromoszómákon az Fcp1 a transzkripciósan aktív, interband régiókban lokalizálódott.

Végül a *Xenopus* Fcp1 (XFcp1) transzgenikus *Drosophila*-ban történő expressziójáról írok dolgozatomban. A XFcp1 túltermelése, eltérően a *Drosophila* fehérjétől, nem okoz letalitást *Drosophila*-ban, viszont képes menekíteni a DmFcp1 hiányában bekövetkező fenotípust.

MOLBIOL2-10

***Drosophila melanogaster* p53 fehérjéjével kölcsönható gének vizsgálata**

Sike Ádám

V. biológus

SZTE TTK Biokémiai és Molekuláris Biológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Boros Imre egyetemi tanár

Újfaludi Zsuzsanna tudományos segédmunkatárs

A p53 fehérje esszenciális funkciót tölt be a genom épségének fenntartásában azáltal, hogy DNS károsodás hatására sejtciklus blokkot, DNS javító folyamatokat vagy apoptózist indukál, eliminálva a károsodott sejteket. *Drosophila melanogaster*-ben azonosították a humán p53 homológját (Dmp53), így ezt a modell organizmust felhasználva, a Dmp53-mal kölcsönható fehérjék és az általa szabályozott gének azonosításán keresztül újabb lehetőség nyílt a p53 működésének vizsgálatára.

Munkám során két olyan *Drosophila* génnel dolgoztam (*rhomboid*, *CG11982*), melyek promóter régiójukban lehetséges Dmp53 kötőhelyeket tartalmaznak, ezért feltételezzük, hogy a Dmp53 fehérje transzkripció szabályozása alatt állnak. Ennek bizonyítására a promóterek és a Dmp53 kapcsolatát vizsgáltam az általam létrehozott riporter plazmidok segítségével. A promóterekre specifikus primereket tervezve, PCR reakció segítségével amplifikáltam, majd a megfelelő restrikciós enzimek használatával luciferáz riporter gént tartalmazó plazmidokba juttattam be a feltételezett kötőhelyeket. Az elkészült konstrukciókkal humán sejtvonalon végeztem vizsgálatokat, és a kísérlet többszöri megismétlése után a HeLa sejtekben nem tapasztaltuk a Dmp53 transzaktivációs hatását ezeken a promóter régiókon.

Egy másik *in vitro* eljárás – az EMSA (Electrophoretic Mobility Shift Assay) – segítségével fogom vizsgálni a Dmp53 és lehetséges transzkripcionális célpontjainak kapcsolatát. Irodalmi adatok utalnak arra, hogy a humán p53 fehérje csak C-terminálisának hiányában képes kötőhelyének felismerésére ebben a kísérleti rendszerben, ezért fontosnak tartjuk *Drosophila* homológjának ilyen irányú vizsgálatát is. Ehhez a Dmp53 módosított alakjait kódoló konstrukciókat állítottuk elő transzaktivációs (N-terminális) illetve a tetramerizációs domainjének (C-terminális) deléciójával, az intakt fehérjét tartalmazó plazmid mellett. A Dmp53 ezen formáit baktériumban túltermelve lehetőségünk nyílik majd az EMSA elvégzésére, amelyhez a már említett *rhomboid* és *CG11982* promótereit használjuk próbának, igazolva vagy cáfolva azokban a Dmp53 kötőhelyek meglétét és működését.

Az RNS polimeráz II RPB4-es alegységének vizsgálata *Drosophila melanogaster*-en

Suri Katalin

V. biológus

SZTE TTK Genetikai és Molekuláris Biológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Boros Imre Miklós egyetemi tanár

Pankotai Tibor tudományos segédmunkatárs

Újfaludi Zsuzsanna tudományos segédmunkatárs

Eukarióta szervezetekben az mRNS szintéziséért az RNS polimeráz II felelős. Az RNS polimeráz II 12 alegységből álló komplex. Célunk a *Drosophila melanogaster* RNS pol II RPB4-es alegységének vizsgálata. Az eddigi irodalmi adatok RPB4 működéséről élesztőből származnak, ezért indokolt magasabb rendű eukariótában az RPB4 szerepének tisztázása.

Az élesztő RPB4 nem esszenciális, hiánya azonban extrém hőmérsékleti körülmények között, vagy tápanyag hiány esetén lassabb növekedéshez és a transzkripció aktivitásának csökkenéséhez vezet. Feltételezhetően az *Rpb4* az RNS pol II funkcionális védelmét végzi ezen körülmények között. A fehérje heterodimert képez az RPB7 fehérjével, amelynek szerepe az iniciációs komplex stabilizálása lehet. Az RPB4 az RPB7 rögzítésében vehet részt a core komplexen.

Az ecetmuslica RPB4 129 aminosavból áll és egy élesztő adaptor homológ fehérjével (dADA2a) együtt íródik át, majd alternatív splicing segítségével képződik a két különböző mRNS, melyeknek első exonja azonos.

Az *Rpb4* hiányos állatok L1-es stádiumban elpusztulnak, amely bizonyítja, hogy, az élesztővel ellentétben, a *Drosophila* esetén az RPB4 esszenciális. A létrehozott mutánsok ellenőrzésére és az RPB4 fehérje kifejezésére RPB4-et ektopikusan termelő transzgenikus állatokat hozunk létre. Ezeket a vonalakat hősokk és aktin promóter szabályozása alatt álló GAL4 drivert tartalmazó állatokkal kereszteztük. A keresztezés eredményéből származó állatokon vizsgálni szeretnénk a génexpressziós változásokat. A rendszer alkalmas továbbá az RPB4 kromoszómális elhelyezkedésének vizsgálatára különböző sztrezz folyamatok hatására.

Élesztő esetén az *Rpb4* hiányos fenotípus az RPB7 overexpressziójával szupresszálható. A két alegység kapcsolatát szeretnénk vizsgálni *Drosophila*-ban is, ezért *Rpb7* mutánsainkban vizsgálni kívánjuk az RPB4 túltermeltetésének hatását. Dolgozatomban a transzgenikus állatok előállítását ismertetem.

Továbbá az RPB4 alegységgel kölcsönható fehérjéket szeretnénk azonosítani élesztő kettős hibrid rendszer segítségével a *Drosophila Rpb4* cDNS-t csaliként használva *Drosophila* embrionális cDNS könyvtáron.

NEUROBIOLÓGIA 1. TAGOZAT

A 17 β -ösztadiol hatása a mikroglia-sejtek sérülés-indukálta aktivációjára egér nucleus oculomotoriusában

Berger Ágoston

IV. biológus

SZTE TTK Összehasonlító Élettani Tanszék

témavezető: Dr. Párducz Árpád tudományos tanácsadó

konzulens: Dr. Toldi József egyetemi tanár

A központi idegrendszer gyulladásos reakcióiban kulcsszerepet játszanak az immunrendszer központi idegrendszerre jellemző tagjai a mikroglia-sejtek, melyek nem pusztán a nekrotikus sejt-törmelék eltakarítását végzik, hanem aktívan részt vesznek a gyulladásos állapot előidézésében is.

Idegi sérülést követően mikroglia-sejtek aktiválódnak, morfológiai és funkcionális változásokon mennek keresztül, megnövekszik az immunválasszal és a gyulladással kapcsolatos molekulák expressziója. Az aktivált mikroglia sejtek citokineket, chemokineket és szabad gyököket termelnek, károsítva ezzel a környező neuronokat. A kérdés gyakorlati jelentősége miatt rendkívül lényeges azon molekuláris mechanizmusok tisztázása, melyek a mikroglia aktiválódásában szerepet játszhatnak. A folyamatot számos tényező befolyásolja, így pl. 17 β -ösztadiol is fontos modulátora az idegi sérülést követő, neuronokat és glia-sejteket egyaránt érintő reakcióknak.

Jelen vizsgálataink célja az idegi sérülés egy ún. target deprivációs modelljének jellemzése és annak vizsgálata, hogy a 17 β -ösztadiol miként befolyásolja a mikroglia-aktivációt.

Az általunk használt modellben egyoldali enukleációt végzünk, ennek során sérülnek az extraocularis izmokat beidegző III. agyideg axonjai. A károsodás hatását a III. agyideg centrális magjában, a n. oculomotoriusban tanulmányozzuk, immunhisztokémiai módszerekkel követjük egyes mikroglia markerek expressziójának időbeli változásait. Az adatok feldolgozása során a fénymikroszkópos metszeteket digitalizáljuk és a reakció mértékét képanalizáló szoftverrel kvantifikáljuk.

Kísérleteinkhez 3 hónapos Balb/c egereket használunk, az enukleációt követően a hím és ovariectomizált nőstények egy-egy csoportját 17 β -ösztadiollal kezeljük.

Eredményeink szerint a sérülést követően már az első napon kimutatható mikroglia aktiváció az érintett oldali n. oculomotoriusban, ez maximumát a 4. napon éri el. Nem találtunk szignifikáns különbséget a hím és ovariectomizált nőstények reakciója között. A 17 β -ösztadiol hatására vonatkozó eredményeink arra utalnak, hogy a hormonkezelés csökkenti a sérülésre adott mikroglia választ.

NEUBIOL1-2

Információáramlás a septohippocampalis rendszerben

Dr. Hangya Balázs

V. matematikus

MTA Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet, Agykéreg Kutatócsoport

témavezetők: Dr. Varga Viktor tudományos munkatárs

Dr. Borhegyi Zsolt tudományos főmunkatárs

A hippocampus döntő szerepet tölt be különböző memóriatípusok kialakításában és tárolásában. A hippocampus-szal reciprok kapcsolatban álló mediális septum (MS) kulcsfontosságú az információszervező viselkedések és REM alvás alatt regisztrálható hippocampalis EEG mintázat – a theta oszcilláció – létrejöttében. A MS hippocampusba vetítő sejtjeinek jelentős része a hippocampalis thetával szinkron, ritmusos aktivitást mutat. A septo-hippocampalis vetítő sejtek aktivitásának összehangolásában az egymással létesített kapcsolataik mellett a hippocampo-septalis GABAerg pálya is részt vesz. A hippocampalis theta kialakulásának megértéséhez alapvető jelentőségű a két terület közötti információáramlás irányának és dinamikájának vizsgálata, melyet jelen munka céljaul tűztünk ki.

Juxtacelluláris technikával, urethan-nal altatott patkány MS sejtjeinek aktivitását az egyidejű hippocampalis EEG-vel együtt regisztráltuk. Kísérleteinkben a septo-hippocampalis kommunikáció irányát, mértékét, ill. ezek időbeli változását próbáltuk meghatározni. Három módszert használtunk: a lineáris modellen alapuló irányított koherenciát, a cirkuláris statisztikai Rayleigh-féle z-teszten alapuló eljárást és az ELTE TTK – MTA Neurobiológiai Kutatócsoportban dolgozó dr. Szilágyi Nórával közösen fejlesztett információelméleti módszert.

Eredményeink azt mutatják, hogy egyes ritmusos MS sejtek esetében a septo-hippocampalis kommunikáció iránya és mértéke theta és nem-theta szakasz alatt különbözik. Míg nem-theta aktivitás során alacsonyabb szintű, döntően hippocampo-septalis irányú kommunikáció zajlik, addig theta folyamán nagyobb mértékű, dominánsan septo-hippocampalis irányú az információáramlás. Kimutattuk, hogy a ritmusos MS neuronok tüzelése legjobban a 0-200 ms-al később bekövetkező hippocampalis theta ritmussal korrelál, ami további bizonyítéka a MS → hippocampus irányú kommunikációnak a theta aktivitás alatt. Megfigyeléseink így újabb bizonyítékát adják annak, hogy a MS szükséges, bár nem elégséges feltétele a hippocampalis theta kialakulásának.

Periszomatikus gátlósejttípusok fejlődése kortikális neuronhálózatokban

Dudok Barna

III. biológus

ELTE TTK

témavezető: Katona István tudományos főmunkatárs

A GABAerg interneuronok nélkülözhetetlen szerepet töltenek be az agykérgi neuronhálózatok működésében és érési folyamataiban. A gátlósejtek pontos szerepének megértését nehezíti, hogy anatómiai, fiziológiai és molekuláris jellemzőik mentén egyaránt jelentős variabilitást mutatnak. Az egyes interneuron-típusok funkciójának megértését megkönnyítheti, ha a felnőtt agykéreg működésében betöltött szerepük mellett azt is vizsgáljuk, hogy fejlődésük menetrendje milyen összefüggést mutat az egyes neuronhálózati funkciók megjelenésével az ontogenezis során. Kísérleteinkben célul tűztük ki, hogy a látókéreg területén, amely neuronhálózatának felépítése és fejlődése az egyik legjobban ismert a neokortikális régiók közül, feltárjuk vajon az egyes GABAerg interneuronok fejlődési dinamikája korrelációt mutat-e a látás agykérgi reprezentációjának jól ismert kialakulásával.

Az egyik legintenzívebben kutatott interneurontípus, a parvalbumin kalciumkötő fehérjét tartalmazó kosáresejtek esetében már ismert, hogy axonhálózatuk kifejlődése a látókéregben a fokozott okuláris dominancia plaszticitással jellemezhető kritikus periódus alatt megy végbe, és az általuk közvetített gátlás nélkülözhetetlen a kritikus periódus szabályozásában. Kutatásaink során a periszomatikus gátlósejtek másik jelentős típusa, a CB₁ kannabinoid receptort expresszáló kosáresejtek fejlődésének alakulását vizsgáltuk meg a látókéreg és más kortikális régiók posztnatális fejlődése során, molekuláris biológiai és anatómiai módszerek segítségével. Eredményeink alapján a CB₁-pozitív interneuronok axonhálózatának fejlődése a PV-pozitív kosáresejteket megelőzően, az úgynevezett prekritikus periódus során megy végbe, és ez az időzítés specifikus a látókéregre. A fejlődés egyaránt megmutatkozik a CB₁ mRNS mennyiségében, az axonhálózat fejlettségében, illetve a periszomatikus axonterminálisok számában. Mivel a prekritikus periódus során jelenik meg a látókéreg számos, a neuronhálózat fejlett jelfeldolgozó képességét igénylő funkciója (az orientáció-, és irány szelektivitás képessége, valamint a sejtek okuláris dominancia tulajdonságai), feltételezzük, hogy CB₁-pozitív interneuronok fejlődése hozzájárulhat a látókérgi neuronhálózat mintázat-szelekciós képességének kialakításához.

NEUBIOL1-4

Az anterior pretektális mag efferens pályáinak heterogenitása patkányban

Giber Kristóf

V. biológus

ELTE TTK Élettani és Neurobiológiai Tanszék

témavezető: Dr. Acsády László tudományos főmunkatárs

konzulens: Dr. Détári László egyetemi docens

Az anterior pretektum (APT) köztiagyi idegmag, amely erős gátló hatást gyakorol szelektíven az úgynevezett magasabbrendű talamikus relémagvakra. A magasabbrendű talamusz fontos a neokortikális információ továbbításában és módosításában. Károsodása humán páciensek esetében kognitív zavarokhoz vezet. Az APT így jelentős lehet ezen funkciók modulálásában. Az APT nagymértékben hasonlít ezen tulajdonságaiban egy másik köztiagyi maghoz, a zona incertához (ZI). Az APT és a ZI kapcsolatáról részletes anatómiai vizsgálatok azonban még nem történtek.

E munkában az APT efferens pályáit vizsgáltuk az APT-ZI-talamusz hálózaton belül, kombinálva anterográd és retrográd nyomkövető módszereket pre- és posztembedding immuncitokémiai eljárásokkal és in situ hibridizációval. A vizsgált magasabbrendű talamuszmag elsősorban a poszterior mag (PO) volt.

Az APT rostok döntő többsége szelektíven a ZI azon részében végződött, amelyről ismert, hogy a PO-ba vetít. Az APT tehát egy közvetett, APT-ZI-talamikus pályán keresztül is képes befolyásolni a talamuszt. Az APT-ZI vetítés nagyobb részben GABA-negatív, kisebb részben GABA-pozitív komponenseket tartalmazott. Ezt mind a ZI vetítő APT sejtek GAD 67 mRNS tartalma, mind az APT-ZI terminálisok GABA transzmitter tartalma alapján kimutattunk.

Bár az APT talamuszba vetítő és ZI-vetítő neuronpopulációja térben nagymértékben elkeveredett egymással, rendkívül kevés olyan sejtet találtunk, amely mindkét agyterületre vetített volna. Ezek alapján feltételezzük, hogy a közvetett (APT-ZI-talamikus) hatás időbeli összehangolása a már ismert, közvetlen APT-talamikus hatással nem ilyen kettős vetítő APT sejtek révén történik, hanem az APT sejtek rekurrens kollaterálisain keresztül, amelyek kiterjedt, lokális elágazásrendszere minden APT sejtire jellemző. Ez az összehangolás elősegítheti a ZI-talamikus és az APT-talamikus gátlás szinergisztikus hatását.

Az APT sejtek parvalbumin (PV) tartalmáról csoportunk korábban leírta, hogy a tüzelési mintázatukkal összefügg. Jelen munkában kimutattuk, hogy mind a ZI-, mind a PO-vetítő sejtek PV tartalmát nagymértékű heterogenitás jellemzi, és az erősen PV-pozitív, a gyengén PV-pozitív és a PV-negatív sejtek megoszlása a két neuronpopuláció között is eltér.

A duális – GABAerg és GABA-negatív – APT-ZI pálya megléte az APT-ZI-talamusz kör komplex szabályozására utal. E kapcsolatrendszer lehetővé teszi az APT-PO gátlás, illetve a ZI-PO gátlás erősségének APT aktivitás függő finomhangolását.

Azonosított jelsorozatok humán agykérgi hálózatokban

Komlósi Gergely

biológus (2006)

SZTE TTK Összehasonlító Élettani Tanszék

témavezető: Dr. Tamás Gábor egyetemi docens

Az agykérgi információ tárolására vonatkozó mai elképzelésekre igen nagy befolyással van Hebb több mint fél évszázada alkotott elmélete. Hebb szerint a kérgi reprezentáció alapját funkcionálisan összetartozó sejtek képezik, melyek a rájuk specifikus inger hatására együtt kerülnek ingerületbe. Az agykérgi jelenségek vizsgálata során ez idáig csak gyenge szinaptikus kapcsolatokat figyeltek meg, amelyek nem biztosítják az aktivitás terjedését és fennmaradását a hálózatban. Ennek megfelelően a Hebbsi sejtegyüttesek létét kísérletesen még nem igazolták.

Új módszer kombinációt fejlesztettünk ki humán agykéreg vizsgálatára: in vitro whole cell patch clamp technikával agykérgi idegsejt-párokból, hármasokból, négyesekből végeztünk elvezetéseket 18-73 éves páciensek asszociációs kérgéből. Az elvezetett sejtek közötti anatómiai kapcsolatokat korrelált fény és elektronmikroszkópos technikákkal azonosítottuk.

Kísérleteinkben piramissejt egyetlen akciós potenciálja kapcsolatspecifikus eseménysorozatokat eredményezett közeli piramissejteken és interneuronokon egyaránt. Az eseménysorozatok serkentő posztszinaptikus potenciálokból (EPSP) és gátló posztszinaptikus potenciálokból (IPSP) álltak, amelyek akár 30 ms latenciával is érkezhettek. A humán piramissejtek gyakrabban váltottak ki poliszinaptikus eseménysorozatokat a posztszinaptikus sejteken, mint monoszinaptikus EPSP-ket. Kimutattuk, hogy piramissejt egyetlen akciós potenciálja képes interneuronban akciós potenciált kialakítani, mindössze három szinapszison keresztül is.

Eredményeink azt mutatják, piramissejt képes egyetlen akciós potenciállal összetett, sztereotíp eseménysorozatokat létrehozni humán agykéregben, mely az akciós potenciál által aktivált megbízható hálózati működésre utal. Eredményeink bizonyítják a Hebbsi sejtegyüttesek létét az emberi agykéregben, melyekből az információ specifikus aktivitásmintázat formájában előhívható. Kimutattuk, hogy a di- és poliszinaptikus események hátterében a humán agykéregre jellemző hatékony akciós potenciál átvitel áll, mely egyetlen piramissejt felől kevészámú szinapszison keresztül is megvalósítható és nem szükséges hozzá piramissejtek szinkron aktivitása.

NEUBIOL1-6

A cocaine- and amphetamine-regulated transcript peptid és a calbindin expresszió vizsgálata a patkány gyrus dentatus szemcsesejtjeinek postnatalis fejlődése során

Orsi Gergely

V. biológus

PTE ÁOK Központi Elektronmikroszkópos Laboratórium

témavezető: Dr. Ábrahám Hajnalka egyetemi adjunktus

konzulens: Dr. Gábrriel Róbert egyetemi tanár

A gyrus dentatus az archicorticalis hippocampus formatio része, amely fontos szerepet tölt be a tanulási folyamatokban. Rágcsálókban a hippocampalis tanulási folyamatok a téri tájékozódás tesztelésével vizsgálhatóak, melyben a szemcsesejteknek kitüntetett szerepe van. Patkányban a szemcsesejtek 80%-a születés után keletkezik, és csak a 3. postnatalis hét végére alakul ki a felnőttre jellemző szemcsesejtszám. A szemcsesejtek több neurokémiai markert tartalmaznak, köztük a calcium-kötő fehérje calbindint (CB) és a cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) peptidet. A CB megjelenését több más agyi területen összefüggésbe hozzák az idegsejtek funkcionális érésével, és valószínű, hogy ez a gyrus dentatus szemcsesejtjeire is igaz. Feltételezzük, hogy a CART peptid megjelenése szintén korrelál a szemcsesejtek funkcionális fejlődésével. Ennek igazolására végeztünk egy szisztematikus összehasonlító vizsgálatot, melyben a CB és a CART peptid expresszióját vizsgáltuk.

A vizsgálathoz 5-90 napos hím Long Evans patkányokat használtunk, melyeket mély altatásban perfúziós módszerrel fixáltunk. Vibratómmal készített egymás után következő párhuzamos metszeteken indirekt immunhisztokémiai eljárással CB-t és CART peptidet mutattunk ki.

Az első CB-immunreaktív szemcsesejtek a postnatalis 7. napon figyelhetők meg a str. granulosum dorsalis rétegének külső, molecularis réteggel határos részén. Ebben a korban a CART peptid még nem jelenik meg. Kilenc napos korban a CB-pozitív szemcsesejtek már mindkét blade külső részén megfigyelhetők, valamint a szemcsesejtek axonjai, a moha rostok egy része is immunreaktív. Később, 12-30 napos korban a CB egyre több szemcsesejtben és moharostban mutatható ki. Az első CART-pozitív szemcsesejtek 9 napos korban jelennek meg, míg a felnőttben megfigyelhető immunpozitív sejtszám és moharostköteg csak 27-30 napos korra alakul ki.

Megállapítható, hogy mind a CB, mind a CART peptid viszonylag későn, postnatalisan az 1. hét után jelenik meg először a gyrus dentatus szemcsesejtjeiben és a felnőttre jellemző kép csak az első hónap végére alakul ki. Mindez összhangban van a szemcsesejtek késői keletkezésével, valamint azzal, hogy a patkányok viszonylag későn, csak a 16. nap után képesek hippocampusfüggő feladatok megoldására. Ezekből arra következtethetünk, hogy mind a CB, mind a CART peptid megjelenése korrelál a szemcsesejtek funkcionális érésével.

Asztroglia-indukálta neurogenesis: asztroglia-sejtek és idegi őssejtek kölcsönhatásainak szerepe az idegsejtképződésben

Orsolits Barbara

V. biológus

ELTE TTK

témavezető: Dr. Környei Zsuzsanna, tudományos munkatárs

konzulens: Dr. Madarász Emília tudományos főmunkatárs

Az elkötelezetlen idegi őssejtek mikrokörnyezetének meghatározó elemei az asztroglia-sejtek, melyek részt vesznek a neuronális differenciálódási folyamatok irányításában. Az asztrociták – *in vitro* körülmények között – indukálni képesek elkötelezetlen, pluripotens őssejtek tömeges neuronális differenciációját. Kérdéses azonban, hogy pontosan milyen gliális faktorok játszanak szerepet a glia-által indukált neuronképződésben. Az idegi őssejtek neuronális differenciációja – asztroglia jelenléte nélkül – all-transz retinsavval (RA) is beindítható. Felvetődött, hogy a glia által indukált neurogenesis az asztrociták endogén RA termelése okozhatja. Munkám során a RA szerepét vizsgáltam a glia-indukálta idegsejt-differenciáció folyamatában. Újszülött egéragyból nyert primer asztroglia-sejtek, immortalizált idegi őssejtek (NE-4C), P19 embrionális karcinóma (EC) sejtek, valamint embrionális őssejtek (ES) kontakt és nem-kontakt ko-kultúráival dolgoztam. A sejtek RA produkciójának kimutatásához egy RA szenzitív, LacZ riporter-gént hordozó F9 embrionális karcinóma sejtvonalat használtam. A RA termelés kulcsenzimének jelenlétét RT-PCR segítségével mutattam ki. A RA hatását a retinsav receptor (RAR)-függő transzkripciót szelektíven gátló RAR blokkolóval (AGN193109) védtem ki.

NEUBIOL1-8

A parvalbumin neuroprotektív hatásának vizsgálata gerincvelői axotómiás modellen

Paizs Melinda

biológus (2006)

SZTE TTK Összehasonlító Élettani Tanszék

témavezető: Dr. Siklós László tudományos tanácsadó

konzulens: Dr. Toldi József egyetemi docens

Az amyotrofiás laterálsclerosis (ALS) a mozgató idegsejteket támadó ismeretlen eredetű degeneratív betegség. A betegekben a klinikai tünetek észlelése után a denervációból eredő harántcsíkt izomsorvadás bénuláshoz, majd 3-5 éven belül halálhoz vezet, de bizonyos izomcsoportokat, így az akaratlagos záró-, ún. sphincter – izmokat és a külső szemmozgató izmokat beidegző motoneuronokat a betegség megkíméli.

Jelenleg nem áll rendelkezésre olyan egyedülálló diagnosztikai marker, vagy eljárás, mely önállóan és egyértelműen bizonyítaná a betegség fennállását. A helyzetet az is nehezíti, hogy a tünetek betegenként változóak.

Munkahipotézisünk, hogy a mozgató idegsejtek sérülését kalcium háztartásuk stabilitása és környezeti (mikro) gliasejtekkel történő kölcsönhatása határozza meg. Az ALS patomechanizmusának vizsgálatára és lehetséges neuroprotektív eljárások kidolgozására axotómiás kísérleteket terveztünk. Ezzel az eljárással tanulmányozható a lézió kialakulása következtében létrejövő sejtválasz morfológiai, fiziológiai és nem utolsósorban a citológiai változása. A kiváltott abnormalitás függ a lézió lokalizációjától (pl. centrális vagy perifériás sérülés), a sejtesthez való viszonyától (proximális vagy distális lézió), az állatmodell életkorától.

A motoneuronokban a magasabb intracelluláris kalcium puffer (parvalbumin szint) protektív hatásának vizsgálatára fokozott parvalbumin expresszióval rendelkező (PV+/+) transzgénikus egereket fejlesztettünk ki. Az egerekben a sérülés mértékét az ischiadicus ideg átvágását követő 3. napon a gerincvelői gyulladásos reakció intenzitásával jellemeztük. Ehhez, a gerincvelő lumbális szegmensében – immunhisztokémiai módszerekkel – a CD11b és az MCP-1 festés erősségét vizsgáltuk. Az immunfestődés mértékét a nem műtött oldali reakció mértékéhez, mint belső kontrollra viszonyítva számszerűsítettük.

A vad típushoz viszonyítva a parvalbumint overexpresszáló egerekben a gyulladásos reakció mértéke nem változott, míg a motoneuronális sérülés mértékében marginális különbséget mutattunk ki. A különbség statisztikai szignifikanciáját további kísérletekkel döntjük el.

Sérült gerincvelői motoneuronok regenerációja őssejt beültetést követően

Pajer Krisztián

V. biológus

SZTE TTK Összehasonlító Élettani Tanszék

témavezető: Dr. Nógrádi Antal egyetemi docens

konzulens: Dr. Toldi József egyetemi tanár

A gerincvelő sérülések következményeként ill. egyes fatális kimenetelű betegségekben a gerincvelői motoneuronok túlnyomó része elpusztul. A károsodott motoneuron populációk pótlásának egyik lehetősége az őssejt transzplantáció. Kísérleteinkben azt vizsgáltuk, vajon neuroektodermális őssejtek beültetésével pótolhatók-e az elpusztult motoneuronok, illetve a beültetett őssejtek befolyásolják-e a sérült gerincvelő regenerációs folyamatait. Kísérleti modellünkben Sprague-Dawley nőstény patkányokon mély klorál-hidrát altatásban feltártuk a lumbális 4 (L4) gerincvelői szegmentumot, a L4 mellső gyökeret kihúztuk, majd egér neuroektodermális őssejtek beültetése után a kihúzott mellső gyökeret laterálisan visszaültettük. Kontroll állatokban csupán a mellső gyökeret húztuk ki és ültettük vissza őssejtek beültetése nélkül. A mellső gyökér kihúzása kettős célt szolgált: a sejttest közeli axotomia motoneuron depléciót idéz elő, másrészt a regenerálódó axonoknak lehetőségük van benőni a visszaültetett mellső gyökérbe. Immunszuppresszív terápiát nem alkalmaztunk, mert a differenciálatlan őssejtek ellen nem indult immunreakció. Két hónappal később a L4 nervus spinalis ventrális ágát átmetszettük és a proximális csonkra retrográd módon transzportálódó fluoreszcens festékkristályokat (Fast Blue) helyeztünk. A beültetett sejteket immunhisztokémiai markerekkel térképeztük fel.

A beültetett sejtek túléltek és kismértékben differenciálódtak. A transzplantált sejtek elsősorban a hátsó szarvban és az intermedier szürkeállományban telepedtek le. Kiszámú beültetett sejt esetében ($n < 50000$) a sejtek neuronokká és asztrocitákká differenciálódtak, de nem járultak hozzá a reimplantált mellső gyökér beidegzéséhez, hanem elősegítették a gazdaszövet sérült motoneuronjainak túlélését és regenerációját. Nagyobb számban beültetett sejtek ($n = 100000$) axonjai benőttek a visszaültetett mellső gyökérbe, de a sejtek nem differenciálódtak motoneuronná. Amennyiben a beültetett sejtek száma meghaladta a félmilliót, a sejtpopuláció tumorszerű növekedést mutatott, a sejtek differenciálatlanok maradtak.

NEUBIOL1-10

**Neuropeptid génexpressziós mintázat változás a hipotalamusz paraventriculáris
magjában metabolikus kihívások hatására**

Tóth Eszter

IV. biológus

ELTE TTK Anatómia, Sejt- és Fejlődésviológiai Tanszék

témavezető: Dr. Kovács Krisztina tudományos tanácsadó

konzulens: Dr. Zboray Géza egyetemi adjunktus

A hipotalamo-hipofízis-mellékvese (HPA) rendszer fontos szerepet tölt be a szervezet metabolikus- és stressz-szabályozásában. Dallman és mtsai (Endo 142: 2796, 2001) kimutatták, hogy a mellékveseirtás HPA-tengely aktivitás fokozó hatása metabolikus faktorokkal visszaszorítható. Kísérleteink során mellékveseirtott patkányok paraventriculáris magjában (PVN) különböző neuropeptidek génjeinek (AVP-arginin vazopresszin, OXY-oxitocin, CRH- corticotropin-releasing hormone) expresszió változását, valamint a Fra-2 aktivációs marker szintjét vizsgáltuk szacharóz itatás hatására. Fra-2 immunreaktivitás növekedést detektáltunk a hipotalamusz paraventriculáris magjában mindkét kihívás hatására. Mellékveseirtás következtében mind a CRH, mind pedig az AVP génexpresszió fokozódott a PVN hipofizeotróp sejtjeiben, és ez a növekedés változatlan maradt szacharóz itatott állatokon. Ugyanakkor jelentős neuronális aktivitásfokozódást tapasztaltunk a PVN autonóm projekciós idegsejtjeiben cukoroldat fogyasztás hatására. Ezen neuronok OXY-fenotípusuk, azonban nem detektáltunk változást az OXY expressziós szintben. Ugyanakkor AVP génindukciót mutattunk ki szacharóz itatás hatására az agytörzsbe vetülő idegsejtjeiben.

Összefoglalva: a mellékveseirtás és szacharóz itatás eltérő génexpressziós mintázatot eredményez a hipotalamusz metabolikus- és stressz-szabályozásban kulcsszerepet játszó paraventriculáris magjában.

Illuzórikus kontúrok feldolgozása a majom látórendszerében

Varga Zsuzsanna

V. biológus

SZTE TTK Összehasonlító Élettani Tanszék

témavezetők: Dr. Benedek György egyetemi tanár

Dr. Sárly Gyula egyetemi docens

konzulens: Dr. Varga Csaba egyetemi docens

Az illuzórikus kontúrok, amelyeket szubjektív, kognitív, virtuális és látszólagos kontúroknak is neveznek, határozott kontúrként jelennek meg, annak ellenére, hogy az általuk elkülönített területek között nincs kontraszt vagy luminancia gradiens. Az illuzórikus kontúrok észlelésének képességét több, evolúciós szempontból független állatcsoportban is kimutatták (emlősök, madarak, rovarok). Az illuzórikus kontúrok neurális feldolgozásának vizsgálatával a valódi kontúrok észlelésének mechanizmusára és általánosan az érzékelés szerveződésére lehet következtetni.

Számos tanulmányban kimutatták, hogy az illuzórikus kontúrok feldolgozása már az elsődleges vizuális kéregben (V1) elkezdődik, de szoros kapcsolatban van az egyes extrastriális területekről (V2) érkező projekciókkal is. Bizonyos megfigyelések arra utalnak, hogy ennél magasabb szintű területek is részt vesznek az illuzórikus kontúrok feldolgozásában, ugyanis majom inferotemporális (IT) kérgen végzett léziók az illuzórikus kontúrok felismerésének elégtelenségéhez vezettek.

Az általunk elvégzett kísérletek éber majmok IT sejtjeinek válaszát vizsgálták egysejtes elektrofiziológiai mérésekkel annak függvényében, hogy a sejtet valós vagy illuzórikus kontúrból álló stimulus érte. A valós kontúros stimulusokat 20 színes kép, illetve ezek módosított változatai jelentették, az illuzórikus kontúros stimulusok a színes képek fekete-fehér rácsozatú változatai voltak. Az illuzórikus kontúrokat a háttér és az alakot alkotó rácsozat egymáshoz képest való eltolása rajzolta ki.

Habár a vizsgált sejtek egy része a valódi és az illuzórikus kontúrokra is válaszolt, a mérések szerint az illuzórikus kontúrokra adott válasz tüzelési aktivitása alacsonyabb, latenciája hosszabb volt, mint egyes valódi kontúrok esetén. Emellett az egyes stimulusokra való szelektivitás is csökkent.

A fenti eredmények szerint a majom IT kéregben az illuzórikus kontúrok és a valódi kontúrok egyes típusainak feldolgozása eltér.

NEUROBIOLÓGIA 2. TAGOZAT

Az akusztikus ingerek hatása a lassú alvási oszcillációra

Boldizsár Edit

V. állatorvos

SZIE ÁOK Anatómiai és Szöveti Tanszék

témavezetők: Dr. Hajós Ferenc ny. egyetemi tanár

Dr. Ulbert István tud. főmunkatárs

A klasszikus elméletek szerint alvás során belső világunk nagymértékben disszociált a külvilágtól. Eszerint mély alvásban a hangingerek csak a thalamusig jutnak el, nagyagykérgi feldolgozásra azonban nem kerülnek. Mély alvás alatt a nagyagykéregben jellegzetes lassú kérgi oszcilláció figyelhető meg, mely aktív és inaktív periódusok ciklikus ismétlődéséből épül fel. Ez a mechanizmus az agyi homeosztázist szabályozó és memória konszolidációs működések fenntartásához szükséges, továbbá szerepet játszik az epilepszia keletkezésében.

Ha a hallókéreg nem dolgozna fel a beérkező hangingereket, az alvás közben előforduló vészjelekre sem ébredne fel az egyed, így életben maradási esélyei jelentősen csökkennének. Ugyanakkor, ha minden neszre felébredne, súlyos alvásmegvonási szindrómában szenvedne, amely szintén egy komoly kiszolgáltatottsági helyzetet teremt. Hipotézisünk szerint léteznie kell egy árnyaltabb ingerfeldolgozási stratégiának, mely lassú hullámú alvásban is beengedi kérgi szintre az akusztikus információt, hogy ott a túléléshez minimálisan szükséges feldolgozás lehetővé váljon.

Munkám során az akusztikus ingerek lassú kérgi oszcillációra való hatását vizsgáltam ketamin-xylazin altatásban macskán és majmon. Majmok esetén az akusztikus és a másodlagos szomatoszenzoros kérget, macska esetében pedig akusztikus kérget, illetve a suprasylvian asszociációs területet (area 7) vizsgáltunk. Sokcsatornás mélyelektrodával elvezetett agykérgi potenciálok analízisével állapítottuk meg a különböző kérgi területek oszcilláció változásait.

Kísérleteink során, akusztikus ingerekre kiváltott válaszokat találtunk a primer hallókéregben, valamint azt tapasztaltuk, hogy az ingerek beindítják a lassú alvási oszcilláció aktív állapotát, azaz szinkronizálják a lassú oszcillációt. A környéki asszociációs és szomatoszenzoros területek lassú oszcillációját vizsgálva felfedeztük, hogy az akusztikus kéreg modulált aktivitása egyes környéki areák oszcillációját is szinkronizálni képes.

Eredményeink arra utalnak, hogy az inger által kiváltható aktív és inaktív állapotoknak fontos szerepe lehet az ébresztő és alvásvédő mechanizmusok szabályozásában. Az akusztikus kéreg szinkronizáló hatása kiterjed a környező szomatoszenzoros és asszociációs kérgi területekre, így felkészítheti azokat a későbbiekben beérkező információ hatékonyabb feldolgozására.

NEUBIOL2-2

Az arcadaptáció térbeli specificitásának elektrofiziológiai vizsgálata

Harza Irén

IV. biológus

ELTE TTK

témavezetők: Dr. Kovács Gyula egyetemi docens

Dr. Vidnyánszky Zoltán

A neurális adaptáció egyik legmagasabb szintű megnyilvánulási formája viselkedési szinten az arcadaptáció: egy adott arc hosszabb bemutatása eltorzítja arcpercepciónkat.

Jelen kísérleteinkben azt vizsgáltuk humán pszichofizikai és elektrofiziológiai módszerekkel, hogy van-e összefüggés az arcadaptáció által kiváltott utóhatások térbeli specificitása és az adapter arc expozíciós ideje között. Az alanyoknak arcok nemét kellett eldönteniük, miközben a nemi diszkriminációs teljesítményt mértük és vizuális kiváltott válaszokat regisztráltunk adaptáció nélkül, egy perifériásan prezentált tipikus női arccal való hosszú (5000 ms), valamint rövid (500 ms) ideig tartó adaptáció után. A teszt alatt az adapter arc és a tesztarc vagy azonos látótérfélben, egymást átfedve, vagy ellentétes látótérfélben jelent meg. Viselkedéses eredményeink azt mutatják, hogy a nemi döntést a női adapter arc szemlélése az ellenkező nem irányába tolja el, hosszú és rövid adaptáció során egyaránt. Ugyanakkor hosszú adaptáció során jelentős utóhatást találtunk, nemcsak akkor, ha az adapter- és a tesztarc azonos látótérfélben jelent meg, hanem akkor is, amikor ellentétes látótérfélben mutattuk be azokat. A kialakult utóhatás mértéke azonban átfedő esetben lényegesen nagyobb volt, vagyis az adaptáció mind pozíció specifikus, mind pozíció invariáns komponenset tartalmaz. Azonban rövid adaptáció után az utóhatások teljesen pozíció invariánsak voltak. A viselkedéses eredményekkel összhangban a vizuális kiváltott válaszok N170 komponensen kimutatható hatásai (amplitúdójának csökkenése) is csak akkor mutattak pozíció specificitást, amikor hosszú idejű adaptációt alkalmaztunk. Eredményeink arra utalnak, hogy míg az arc-adaptáció pozíció-specifikus komponense hosszú idejű adaptációs időt igényel, addig a pozíció invariáns folyamatokat rövid és hosszú idejű adaptáció egyaránt befolyásolni képes.

Eredményeink megmutatják, hogy a szelektív adaptációs folyamatokkal lehetséges a magasabb-szintű, alak-szelektív kódolás különböző hierarchikus szinten történő idegrendszeri folyamatainak elkülönítése.

Az intranazálisan bejuttatott amyloid β (1-42) magatartási hatásainak vizsgálata

Horváth János

IV. biológus

SZTE TTK Összehasonlító Élettani Tanszék

témavezető: Dr. Penke Botond egyetemi tanár

konzulens: Dr. Toldi József egyetemi tanár

Az Alzheimer-kór (AD) egy progresszív szellemi hanyatlással járó neurodegeneratív betegség. A kognitív diszfunkcióért elsősorban az A β (1-42) peptidet tartják felelősnek, mely jellemző módon extracelluláris plakkok formájában rakódik le főként a hippocampus és a neokortex területén. Ezen területek funkcióbeli károsodása tanulási és memóriazavarok kialakulásához vezet. Tanulmányunk célja az A β peptid intranazális úton történő bevitelének volt, mely módszer egy nem invazív, ugyanakkor effektív módja különböző anyagok központi idegrendszerbe juttatásának.

Előzetes kísérleteinkkel igazoltuk az intranazálisan beadott fluoreszcensen jelölt A β (1-42) fehérje bejutását az agyba. Ezt követően két kísérleti csoportban, először egy hónapon keresztül napi egyszer, majd öt napon át napi két alkalommal kezeltünk 40 hím Wistar patkányt A β (1-42)-vel vagy az amyloid β vivőanyagával.

A beadási procedúrát követően magatartásterazsztokkal mértük fel a bejuttatott A β (1-42) állatokra gyakorolt hatását. Nyílt porond tesztben vizsgáltuk az anxiétást, Y-labirintus tesztel pedig a munkamemóriát. A térbeli memória mérésére a Morris-féle vízilabirintus tesztet alkalmaztuk. A memóriaterazsztokat követően hisztológiai vizsgálatokat is végeztünk eredményeink alátámasztására.

Az Y-labirintus és a Morris-féle vízilabirintus tesztben az A β (1-42)-vel kezelt állatok tendenciózusan rosszabbul teljesítettek a kontroll és az intakt társaiknál, de szignifikáns különbség nem volt kimutatható. A nyílt porond tesztben nem volt kimutatható különbség az egyes csoportok teljesítménye között. A magatartásterazsztok eredményei a beinjektált A β (1-42) memóriakárosító hatására utalnak, ugyanakkor anxiétásbeli különbséget a csoportok között nem tapasztaltunk. Az intranazálisan bevitt A β (1-42) peptid immunhisztokémiaiilag kimutatható volt mind a bulbus olfactorius, mind a frontális cortex területén. Az állatok vérmintáin elvégzett ELISA teszt eredményei szerint a peptid beadása nem váltott ki immunválaszt.

NEUBIOL2-4

A béta-amyloid okozta memóriadeficit vizsgálata patkánymodellen

Kasza Ágnes

V. biológus

SZTE TTK Összehasonlító Élettani Tanszék

témavezető: Dr. Penke Botond egyetemi tanár

konzulens: Dr. Toldi József egyetemi tanár

Az Alzheimer-kór kialakulásában fontos szerepet játszik a fibrillumokba rendeződött amyloid- β fehérje ($A\beta$). A betegség szempontjából legérintettebb területek a hippocampusz formáció, a kolinerg rendszer és a frontális kéreg. Az entorhinális kéreg a hippocampusz legfőbb ki- és bemeneti struktúrájaként játszik fontos szerepet.

Kísérleteink célja egy olyan patkánymodell kidolgozása volt, melyben fibrilláris $A\beta$ agyba injektálása memóriabeli különbségeket okoz. Ez a modell alkalmas lehet az $A\beta$ fibrillumok képződését gátló gyógyszerjelöltek tesztelésére.

300 g körüli Wistar hím patkányoknak bilaterálisan injektáltuk az entorhinális kéregbe. A kezelt állatoknak $A\beta_{(1-42)}$ oldatot, a kontroll csoportnak fiziológiás sóoldatot adtunk be, valamint pozitív kontrollként NMDA-t (N-metil-D-aszpartát) injektáltunk egy harmadik csoportnak.

A magatartásteszteket két héttel az operáció után kezdtük meg. Open field teszttel vizsgáltuk az anxiétásának paramétereit. A rövidtávú memória tesztelésére Y-labirintustesztet alkalmaztunk. A hosszútávú memóriát tárgyfelismerés teszttel, a térbeli referenciamemóriát Morris-féle vízilabirintusban mértük fel.

Az $A\beta_{(1-42)}$ oldatot kapott állatok két héttel az entorhinális kéregbe injektálást követően a kontrolloknál szignifikánsan rosszabbul teljesítettek a tárgyfelismerés tesztben és a térbeli memóriatesztben is. Ugyanakkor nem volt különbség az egyes csoportok között az Y-tesztben, a rövid távú memória tesztelése során.

Immunhisztokémiával kimutatható volt az asztrociták hiperreaktivitása az injektálás helyén, valamint plakkszerű lerakódásokat figyeltünk meg az entorhinális kéregben az $A\beta_{(1-42)}$ -val kezelt állatokban. Ilyen intenzív asztrogliózist, valamint plakkszerű lerakódásokat kontrollok esetén nem tapasztaltunk. Eredményeink alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy az entorhinális kéregbe adott $A\beta_{(1-42)}$ injekció károsítja a hosszútávú memóriát, így alkalmas lehet az $A\beta$ toxikus hatása ellen védő gyógyszer-molekulák tesztelésére.

Különböző központi idegrendszeri hatású gyógyszerek hatásmechanizmusának vizsgálata nátriumcsatornákon

Lenkey Nóra

orvos (2006)

SE ÁOK Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet

témavezető: Dr. Mike Árpád tudományos főmunkatárs

A feszültségfüggő nátriumcsatornákat használatfüggő módon gátolja számos különböző terápiás hatású gyógyszer, mint például a helyi érzéstelenítők, I. típusú antiarrhythmás szerek, antikonvulzánsok, antidepresszánsok, antipszichotikumok és neuroprotektív gyógyszerek. Feltételezik, hogy a használatfüggés hátterében különböző konformációkhoz való eltérő affinitás áll. Ha a gyógyszer nagyobb affinitással rendelkezik egy bizonyos konformációs állapothoz, akkor ezt az állapotot stabilizálja is. Az említett gyógyszerek esetében a nyitott vagy a gyors inaktívált állapot stabilizálását feltételezik. Munkacsoportunk az antikonvulzánsok (AC: carbamazepine, phenytoin) és antidepresszánsok (AD: fluoxetine, desipramine) hatásmechanizmusának összehasonlítását végezte el. A patch clamp módszer „whole-cell” és „outside out” konfigurációiban, patkány hippocampalis tenyészeteken végzett kísérleteink felvetettek egy alternatív hatásmechanizmust az AD esetében: a lassú inaktívált állapot stabilizálását. A hipotézis igazolására speciális feszültségprotokollokat dolgoztunk ki, amelyek segítségével a lassú és a gyors inaktívált állapot stabilizálása elkülöníthető.

Eredményeink alapján az AC (0.3-1 mM) főleg a gyors, míg az AD (1-30 μ M: terápiás koncentrációtartomány) inkább a lassú inaktívált konformációt stabilizálja.

A hatásmechanizmusok szimulációjára egy nátriumcsatorna-modellt fejlesztettünk ki, melynek segítségével leírható a csatornapopuláció viselkedése tetszés szerinti feszültségminta esetén, különböző hatásmechanizmusú vegyületek jelenlétében. A feltételezett domináns hatásmechanizmusok (a gyors ill. lassú inaktívált állapot stabilizálása) szimulálása reprodukálta a mérési eredményeket. A lassú inaktívált állapot stabilizálása feltehetően elsősorban a dendritikus integrációt érinti, így befolyásolhatja a terápiás hatás során fellépő plasztikus folyamatokat (Castren, 2005).

A hatóanyagok hatását szimulálni tudó csatornamodellek modellsejtbe helyezésével sejt szinten vizsgálhatóak lesznek a gyógyszerhatások, és ez hozzájárulhat a „multi-target” gyógyszerek hatásmechanizmusának teljesebb megértéséhez, valamint a legmegfelelőbb terápiás szerek fejlesztéséhez – kiválasztásához.

NEUBIOL2-6

Akut és krónikus ischaemia hatása patkány hippocampusára

Marosi Máté Gábor

biológus (2006)

SZTE TTK Összehasonlító Élettani Tanszék

témavezetők: Dr. Toldi József egyetemi tanár

Dr. Farkas Tamás egyetemi docens

A kétoldali carotis lekötés (two-vessel occlusion, 2VO) elterjedt eljárás cerebrális ischaemia előidézésére rácsáló modellekben. Eredményeként működési zavar lép fel a hippocampus CA1-es területén, valamint a neocortex egyes területein. Nagy eltéréseket, ellentmondásokat mutattak ki számos, a szakirodalomban megjelent csökkent agyi vérellátással foglalkozó tanulmányban. Jelen munkában az akut rövid (3 óra) és középtávú (3 nap) kétoldali carotis okklúzió okozta agyi hipoperfúzió hatásait követtük nyomon két különböző genetikai vonalra tartozó (Charles-River és Harlan) Wistar patkányokon. Elektrofiziológiai vizsgálatainkban a hippocampus CA3 régiójának ingerlésével az ellenoldali CA1 régióban váltottunk ki population spike aktivitásokat. Ezzel párhuzamosan szövettani megfigyeléseket is végeztünk a hipoperfúzió eredményének pontosabb megismerése érdekében. A kontroll és az ischaemiás csoportokban egyaránt NeuN immunhisztokémiai és Fluoro-Jade B fluoreszcens jelöléssel tettük láthatóvá az ép és a sérült/elpusztult sejteket. Elektrofiziológiai kísérleteink azt mutatták, hogy a Charles-River állatok hippocampalis CA1 sejtjei jobban kompenzálják a rövid ideig tartó 2VO hatására kialakult oxigén- és szubsztát hiányos állapotot, mint az ugyanilyen hatásnak kitett Harlan patkányok. Ez a különbség a két patkányvonalban hosszú távú carotis lekötés esetén már nem mutatkozik. Ezenfelül nincs jelentős eltérés a 3 napos 2VO és a kontroll állatok esetén tapasztalt válaszok között sem, amit a hisztológiai eredmények is alátámasztanak. A különböző szállítótól származó Wistar patkányok jelentős eltéréssel válaszolnak a hippocampust érintő ischaemiás állapotra. Ez a megfigyelés ráirányíthatja a figyelmet arra, hogy milyen fontos figyelmesen kiválasztani nemcsak a kísérleti állattörzseket (patkány, egér, ugróegér), hanem a törzseken belüli vonalakat is. A 2VO-val ellentétben már egy igen rövid 4VO (four-vessel occlusion) – globális agyi hipoxia – súlyos sejtpusztulást okoz a CA1-ben. A sejtpusztulás mértéke azonban csökkenthető 5 perces második ischaemiás eseménnyel. Ezt a megfigyelést a már említett festésekkel láthatóvá is tettük. Ez a módszer továbbfejlesztve potenciális neuroprotekcións eljárásá is válhat.

A vér glutamát szintjének hatása az agykérgi kiváltott válaszokra

Nagy Dávid

V. biológus

SZTE TTK Összehasonlító Élettani Tanszék

témavezető: Dr. Kis Zsolt egyetemi adjunktus

konzulens: Dr. Toldi József egyetemi tanár

Agyi traumák, ischemiás, hipoxiás károsodások alkalmával nagy mennyiségű glutamát (Glu) szabadul fel. Ez a Glu a serkentő NMDA és AMPA receptoraihoz kötődve, a neuronális aktivitás fokozódásához vezet. Mindez megnövekedett intracelluláris Ca^{2+} koncentrációhoz vezethet, ami apoptotikus, nekrotikus folyamatokat elindítva, további másodlagos neuronpusztulást indukál. A neuroprotekciónak egyik ígéretes iránya lehet az említett folyamatok fékezése.

A Glu receptorok tranziens blokkolása mellett az utóbbi időben felvetődött, hogy hatékony neuroprotektív beavatkozás lehetne az interstitialis tér Glu tartalmának csökkentése a Glu transzporterek felhasználásával. Ezek a transzporterek megtalálhatóak a glia, neuron továbbá az agyi kapillárisok endothél sejtjein. A vérben található glutamát-oxálacetát transzamináz enzim glutamátból és oxálacetátból 2 α -ketoglutarátot és aszpartátot képez. Ez a kétirányú folyamat eltolható a Glu átalakulás irányába, amennyiben az oxálacetátot magas koncentrációban és feleslegben juttatjuk intravénásan (i. v.) a keringésbe. A vérben hirtelen lecsökkenő Glu szint elősegíti az agyból a vérbe történő Glu-effluxot. Ez a folyamat az agyi kapilláris ereken található Glu transzportereken keresztül valósul meg, amely így részt vehet az agyi Glu detoxikációban.

Először megvizsgáltuk, hogy magának az oxálacetátnak milyen hatása van a kiváltott kérgi aktivitásra. Elektrofiziológiai elvezetések során, a kontroll válaszok felvételét követően, oxálacetátot adtunk wistar patkányoknak i.v., és követtük a perifériás ingerlésével kiváltott, a szomatoszenzoros kéregről elvezetett válaszokat. Az oxálacetát beadását követően, a várakozással ellentétben, minden esetben a válaszok erőteljes facilitációja volt megfigyelhető. A páros ingerlési paradigma azt mutatta, hogy ez az amplitúdó növekedés nem tulajdonítható a gátló folyamatok csökkenésének, sokkal inkább egy erőteljes Glu felszabadulás fokozódás áll a megfigyelt eredmények hátterében. Az utóbbi időben az oxálacetát tényleges neuroprotektív hatásainak vizsgálata folyik, fototrombotikus lézióval előidézett agyi ischemiás állapotban.

NEUBIOL2-8

Szenzoros információ feldolgozása a bazális ganglionokban

Pető Andrea

V. biológia-II. földrajz

SZTE Összehasonlító Élettani Tanszék

témavezetők: Dr. Benedek György egyetemi tanár

Dr. Nagy Attila egyetemi tanársegéd

konzulens: Dr. Toldi József egyetemi tanár

Korábbi elektrofiziológiai, anatómiai és viselkedéstudományi kutatások már rámutattak a nucleus caudatus (NC) és substantia nigra (SN) szerepére a szenzori-motoros integrációban. Vizsgálataink elsődleges célja az volt, hogy megvizsgáljuk a bazális ganglionok motoros működéseinek háttérben lévő szenzoros folyamatokat, a NC és a SN neuronok szenzoros receptív mező tulajdonságait és multiszenzoros információt integráló képességét.

Kísérleteinket altatott, immobilizált, mesterségesen lélegeztetett házimacskákon végeztük. Vizuális, auditorikus, szomatoszenzoros illetve multiszenzoros ingerlésre adott NC és SN egysejt tevékenységeket regisztráltuk extracellulárisan, wolfram mikroelektróda segítségével.

A vizuális receptív mezők extrém nagyok voltak; a substantia nigra és a nucleus caudatus neuronok a kis méretű, nagy sebességgel, egy meghatározott irányba mozgó ingerekre mutattak maximális válaszkészséget. Az auditorikus és szomatoszenzoros receptív mezők szintén extrém nagyok bizonyultak. Klasszikus topografikus kódra utaló jelet nem találtunk. A vizsgált NC és a SN neuronok többsége multiszenzoros volt. Mind a SN-ban, mind a NC-ban találtunk serkentő illetve gátló multiszenzoros interakciót mutató neuront.

Eredményeink igazolják, hogy a NC-ban és a SN-ban lévő szenzoros neuronok többsége kitért a szereppel bír a vizuális, auditorikus és szomatoszenzoros információ párhuzamos feldolgozásában és integrálásában. Adataink újabb bizonyítékot szolgáltatnak a bazális ganglionokhoz érkező multiszenzoros információk tectális eredetére.

**Az *Aconitum* alkaloid szongorin központi idegrendszeri hatásának
neurofiziológiai vizsgálata**

Szabadfi Krisztina

V. biológus

PTE TTK Kísérletes Állattani és Neurobiológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Hernádi István egyetemi docens

Atlasz Tamás PhD hallgató

A *Ranunculaceae* (Boglárkafélék) család *Aconitum* nemzetségébe tartozó növényekből eddig számos alkaloidot izoláltak (aconitin, mesaconitin, lappaconitin, ajacin, stb.), amelyek a terpén bioszintézis és a nitrogén-anyagszere szerkezetileg és hatásmechanizmusban igen változatos vegyületei. Erős fiziológiai aktivitásúak, kivonataikat méregként alkalmazták Európában és Ázsiában. A tradicionális ázsiai gyógyászatban elsősorban fájdalomcsillapítóként, valamint neurológiai és reumatológiai megbetegedések kezelésében voltak ismertek.

Kísérleteink céljával a Szegedi Tudományegyetem Farmakognózi Intézetének munkacsoportja által új technikával szintetizált diterpén alkaloidok közül a szongorin neurofarmakológiai hatásának klasszifikációját tűztük ki. A vizsgálatainkat *in vivo* elektrofiziológiai technikával végeztük patkány agy különböző területein. Az alkalmazott vegyületek mikroiontoforetikus beadásához, valamint a neuronok spontán extracelluláris egysejtaktivitásának regisztrálásához sokcsatornás mikroelektrodot használtunk.

Vizsgálataink során 29 Long Evans törzsbe tartozó patkány (hímek és nőstények) 168 neuronját vizsgáltuk, amelyeket a neocortex, a hippocampus és a thalamus, valamint a nucleus accumbens és a putamen területeiről regisztráltunk. Az egysejtelvezetések során a szongorin (10-20 mM-os koncentráció, DMSO-ban oldva) az anyagbeadások közel 66%-ában (244/367 beadás) bizonyult hatásosnak, amelyeknél 96%-ban (235/244 beadás) csökkentette a sejtek spontán tüzelési alapaktivitását. Emellett 36 idegsejten vizsgálva megállapítottuk, hogy a szongorin gátló hatása GABA_A antagonistá pikrotoxin mikroiontoforetikus beadásával felfüggeszthető (az esetek közel 55%-ában). Jelen kísérleteinkben bizonyítottuk a szongorin GABA_A receptorokon való közvetlen, gyors, *in vivo* hatása.

Mindezek alapján feltételezzük, hogy a szongorin, mint neuroprotektív vegyület a további farmakológiai vizsgálatok célpontjává válhat, illetve nagy jelentőségű lehet a neurodegeneratív kórképek kezelésében.

NEUBIOL2-10

GABA és peptid neurotranszmitterek rágcálók laterális septumában

Thuma Ákos és Valcz Gábor

V. állatorvos; zoológus (2006)

SZIE ÁOTK Anatómiai és Szövetani Tanszék

témavezető: Dr. Halasy Katalin egyetemi tanár

A septalis komplex a limbikus rendszer része, laterális magcsoportja (LS) szerepet játszik számos vegetatív funkció, köztük a táplálékfelvétel szabályozásában. Kimutatható a kapcsolata a hypothalamus hasonló funkciójú magcsoportjaival, továbbá hasonló neuropeptidek (pl. CART: cocaine- and amphetamine regulated transcript, Gal: galanin, NPY: neuropeptid Y, opioid peptidek) fordulnak elő mindkét agyterületen. A GABA (γ -amino vajsav), mint gátló neurotranszmitter szintén jelen van a LS számos sejtípusában, amelyek szerepelhetnek a neuropeptid-tartalmú axonok szinaptikus céljaiként, ill. a GABA és egyes neuropeptidek bizonyos neuronális elemekben együttesen is előfordulhatnak. Munkánk célja volt, hogy a táplálékfelvételben szerepet játszó neuropeptidek előfordulását, a peptiderg elemek finomszerkezetét, megoszlását és a GABAerg rendszerhez való viszonyát tisztázzuk a LS-ban. E célból perfúziós fixálással rögzített patkány, ill. transzgenikus egér (GAD-65 génhez kapcsolt GFP) agyból készült 60 μ m-es vibratom sorozatmetszeteken fény- és elektronmikroszkópos pre-embedding, ill. fénymikroszkópos immunfluoreszcens festéseket végeztünk. Egy neuropeptid, a CART esetében vizsgálatainkat denzitometriás mérésekkel is kiegészítettük, a peptid rostrocaudalis megoszlásának felderítésére.

Eredményeink szerint mind az egér, mind a patkány agy LS-ban varikózus idegrostokban jelen vannak a fenti neuropeptidek. Sejttest festődést csak az NPY esetében tapasztaltunk. A peptiderg szinaptikus terminálisok finomszerkezete és posztzinaptikus céljai hasonlóak voltak: kis agranuláris vesiculákat és dense-core vesiculákat egyaránt tartalmaztak. Mindegyik peptid esetében a vezető posztzinaptikus cél más, immun-negatív neuronok dendritikus régiója volt. A transzgenikus egereken végzett kolokalizációs kísérletek tanúsága szerint mindegyik neuropeptid kapcsolata beigazolódott a gátló sejtekkel. A Gal és Leu-enk többszörös, pericelluláris kosárszerű innervációt ad a LS GFP-jelölt sejtjein, míg a CART és NPY csak egy-két szinapszis révén látszik ezeket befolyásolni. A GFP- és NPY-pozitív sejttestek között csak ritkán, de előfordul kolokalizáció. A CART megoszlás denzitometriás vizsgálata a peptid egyenlőtlen megoszlására derített fényt: a CART a LS rostralis és caudalis részein nagyobb denzitásban, míg medialis területein alacsonyabb mennyiségben volt kimutatható. Összefoglalva, eredményeink alapul szolgálhatnak későbbi, éheztetési kísérletekhez, ahol az egyes peptiderg neuronális elemek plasztikus változásait, a GABAerg rendszerhez való viszonyában esetlegesen bekövetkező szinaptikus átrendeződéseket kívánjuk nyomonkövetni.

Amiloid- β peptidek hatásának vizsgálata in vitro vér-agy gát modellen

Tóth Andrea

IV. biológus

SZTE TTK Összehasonlító Élettani tanszék

témavezető: Dr. Deli Mária tudományos főmunkatárs

konzulens: Dr. Varga Csaba egyetemi docens

Az Alzheimer-kór patogenezisében és kezelésében fontos szerepet játszik a vér-agy gát, és az azt alkotó agyi endotélsejtek. A fibrillumokat alkotó amiloid- β peptidek a betegség kialakulásának fontos elemei. Kísérleteinkben a 25-35, 1-40, illetve 1-42 amiloid- β peptidszakaszok patkány primer agyi endotélsejt tenyészetekben toxikus hatást mutattak. Csökkentették az MTT festék redukciót, és megnövelték a sejtekből felszabaduló laktát dehidrogenáz mennyiségét, ami a sejtek plazmamembrán károsodását, azaz nekrotikus sejtpusztulást jelez. A nekrozis mértéke nem haladta meg a 20 %-ot az általunk használt dózis tartományban (10-200 μ M). Emellett az agyi endotélsejtekben citoplazmatikus vakuolizációt figyeltünk meg. Ezek az eredményeink összhangban állnak az irodalmi adatokkal.

Patkány primer agyi endotélsejt és glia ko-kultúra vér-agy gát modellen egyszerre vizsgáltuk amiloid peptidek hatását a vér-agy gát barrier funkciójának több elemére is: az elektromos ellenállásra, a para- és transzcelluláris permeabilitásra. Amiloid- β 1-42 peptid csökkentette a rezisztenciát, és fokozta mind a fluoreszcein, mind az albumin átjutását agyi endotél sejtrétegeken. A barrier integritásának sérülését gliasejtek jelenléte kis mértékben enyhítette. Míg az egészséges agyszövetben nincs jelen a szérum amiloid P komponens (SAP), az Alzheimer-kórra jellemző agykérgi amiloid plakkokban és az erek körül felhalmozódó amiloid lerakódásokban jelen van, és segít az amiloid- β peptid fibrillumok stabilizálásában. Eddig a SAP-ot amiloid- β peptidekkel együtt nem tanulmányozták. Kísérleteinkben a SAP szignifikánsan fokozta az amiloid- β 1-42 peptid barrier funkciót gyengítő hatását.

A poliszacharid pentozán poliszulfát sikeresen csökkentette az amiloid- β peptid toxikus hatását agyi endotélsejteken. Emellett a barrier integritást károsító hatással szemben is szignifikáns módon védett. Ezeknek az eredményeknek emeli a jelentőségét, hogy a pentozán poliszulfát egy klinikumban is használt, engedélyezett gyógyszer.

Eredményeink alátámasztják az amiloid peptidek agyi endotélsejteket károsító hatását, és hozzájárulhatnak olyan endotélsejteket védő molekulák kifejlesztéséhez, amelyek alkalmazhatóak lehetnek az Alzheimer-kór kezelésében.

NÖVÉNYÉLETTAN- ÉS SZERVEZETTAN TAGOZAT

NÖVÉL-1

Plantaginis lanceolatae folium hatóanyag-vesztesége szabálytalan tárolás esetén

Gonda Sándor

V. gyógyszerész

DE TTK Növénytani Tanszék

témavezető: Dr. Tóth László egyetemi docens

konzulens: Dr. Vasas Gábor egyetemi adjunktus

A fitoterápiában jó gyulladáscsökkentő és anitbakteriális hatásai miatt kedvelt *Plantaginis lanceolatae folium* – lándzsás útifű levél – két iridoidjának, az aukubinnak és katalpolnak mennyiségét ill. mennyiségének változását vizsgáltuk szabálytalan tárolási vagy szárítási körülmények között. Ezek a növény bizonyítottan aktív hatóanyagai, melyek a drog antibakteriális hatásáért felelősek. Vizsgáltuk a drog iridoid-tartalmának változását számára kedvezőtlen – szabálytalan – eltartási körülmények között, a szárítás során bekövetkező barnulás és iridoid-tartalomváltozás közötti korrelációt, illetve azt, hogy a drog színéből lehet-e közvetlenül következtetni az iridoid-tartalomra. A szabálytalan eltartás vizsgálatához egy nagy páratartalmú levegőjű ill. szabad levegős modellen vizsgáltuk a drogot szabályosan (sötét, levegőtől, fénytől és páratól elzárt helyen) eltartotthoz képest, 6 hét inkubációs időn keresztül, forró vizes extraktumok kapilláris elektroforézissel és vékonyréteg-kromatográfiával történő analízisével. Közvetlen korrelációt a szín és iridoid-tartalom között nem mutattunk ki. A szárítás során bekövetkező barnulás valószínűleg nem az iridoidok bomlásának tudható be, bár a nagy víztartalmú drogok esetén a barnulás aránya sokkal jelentősebb volt és ismert, hogy az iridoidok bomlásának indító lépése a hidrolízis. Míg a 6 héten át magas páratartalmú rendszerben inkubált drog iridoidjainak kb. fele lebomlott, sőt már az 1. hét alatt 20% körüli veszteséget mértünk, a szabad levegőn álló drog 5-10%-ot veszített hatóanyagtartalmából a vizsgálat ideje alatt. Emellett komoly barnulás is lezajlott, amely összefüggésbe hozható az iridoid-tartalom csökkenésével. Az eredmények alapján elmondhatjuk, hogy a drogok szárításánál és raktározásánál nem hangsúlyozható eléggé a páratartalom szabályozás és monitorozás. Kijelenthetjük továbbá, hogy a barna szín nem jelent automatikusan alacsony iridoid-tartalmat, ha azonban a tárolás alatt barnult meg a drog, valószínűsíthető iridoid-tartalmának csökkenése.

NÖVÉL-2

Szalicilsavas áztatás hatása a borsó egyes anyagszere folyamataira

Horgosi Szabina

V. környezettudomány

PE MK Limnológia Tanszék

témavezető: Dr. Szalai Gabriella tudományos főmunkatárs

konzulens: Dr. Padisák Judit egyetemi tanár

Ismeretes, hogy a növények védekezési reakcióiban a szalicilsavnak fontos szerepe van. A szalicilsav növényekben általában néhány $\mu\text{g/g}$ friss tömeg mennyiségben fordul elő.

Irodalmi adatokból tudjuk, hogy a magvak szalicilsavas áztatása növelheti a stressztűrő képességet különböző növényfajokban. Azonban ennek biokémiai, növényélettani alapjai nem ismertek.

A reaktív oxigénformák különböző mértékben minden növényben jelen vannak az aerob anyagszere eredményeként. Számos abiotikus stressz, például alacsony hőmérséklet, vagy szárazság során azonban megnő a reaktív oxigénszármazékok koncentrációja a sejtekben.

A poliaminok esszenciális alkotói a prokarióta és eukarióta organizmusoknak. Olyan fontos metabolikus folyamatokat szabályozhatnak közvetlenül vagy közvetve, amelyek során végső soron kihatással vannak a növények fejlődésére és stressztűrő képességére is.

Munkánk során egyrészt arra kerestünk választ, hogy a szalicilsavas áztatást követően milyen változások következnek be az antioxidáns enzimrendszer működésében, valamint hogyan alakul bizonyos stressztűrést fokozó anyagok, mint pl. a poliaminok és az endogén szalicilsav szintje a csíranövényekben.

A szabad és a kötött szalicilsav valamint a kötött o-hidroxi-fahéjsav szintje megemelkedett, míg szabad o-hidroxi-fahéjsav csak az epikotilban volt kimutatható, de a mennyisége nem változott a szalicilsavas áztatás hatására.

A poliaminok szintje a szalicilsavas kezelés hatására csökkent vagy nem változott szignifikánsan.

A glutation-S-transzferáz aktivitása nem változott a hajtásban, míg az epikotilban és a gyökérben csökkent. Az aszkorbát-peroxidáz működése a hajtásban nem változott, az epikotilban kis mértékben megnőtt, míg a gyökérben lecsökkent. A guaiakol-peroxidáz aktivitás a hajtásban megnőtt, az epikotilban és a gyökérben viszont nem változott.

Mindezek alapján megállapíthatjuk, hogy ezen biokémiai változások, melyeket a SA kezelés kiváltott, a növény további fejlődése során a stressztolerancia kialakulásában jelentős szerepet tölthetnek be. Valamint a kísérletünk során kiderült, hogy az epikotil, mint külön növényi rész fontos szerepet tölthet be a stresszhatásokkor fellépő védekező folyamatok irányításában.

NÖVÉL-3

Vízínövények mikrocisztin-LR-el szembeni érzékenységének összehasonlító vizsgálata

Jámbrik Katalin

V. biológus-ökológus-V. biológia-környezettan

DE TTK Növénytani Tanszék

témavezető: Dr. Mikóné dr. Hamvas Márta egyetemi adjunktus

A cianobaktériumok, régi nevükön kéalgák a vízi életközösségek fontos tagjai. Tömeges elszaporodásuk a vizekben, az ún. vízvirágzás, azonban egyre gyakoribb, környezetvédelmi és közegészségügyi problémákat is felvető jelenség. A toxikus vízvirágzások jellegzetes, tömeges faja az egyszetű *Microcystis aeruginosa* a hepatotoxikus mikrocisztinek (MCY) termelésére képes. Ezek az eukarióta sejtekben lévő protein-foszfatazok specifikus gátlószereiként számos sejtleletani folyamatot befolyásolhatnak. A vízínövények a cianobakteriális vízvirágzások során potenciálisan cianotoxin veszélynek vannak kitéve, ezért indokolt a MCY és a vízínövények lehetséges kölcsönhatásainak vizsgálata.

Dolgozatom a *M. aeruginosa* által termelt MCY-LR különböző vízínövény fajokra, az érdes tócsagazra (*Ceratophyllum demersum*), a vízidarára (*Wolffia arrhiza*), az apró békalencsére (*Lemna minor*) és a bojtos békalencsére (*Spirodela polyrrhiza*) gyakorolt hatásait vizsgálja, és veti össze a szakirodalomban található eredményekkel. A növekedésbeli eltéréseken túl arra is kerestük a választ, hogy a MCY-LR kezelése hatására történnek-e enzimszintű változások; a tesztnövények nyers fehérjekivonataiból poliakrilamid aktivitásgégeken kimutathatók-e különbségek a növényi stresszvázásokban kulcsfontosságú proteázok és nukleázok enzimintázában?

Eredményeink is bizonyították a vízínövényfajok eltérő érzékenységét a MCY-LR-el szemben. A *Ceratophyllum* esetében az alkalmazott toxinkoncentrációk ($0,1 - 20 \mu\text{g ml}^{-1}$) az 5 napos kezelése során nem gátolták a növekedést, de a sejtekben nagy móltömegű savas proteáz enzimek aktivitásemelkedését indukálták. A *Lemna* esetében mérhető növekedésgátlás, de az nem szignifikáns. A DN-áz enzimek aktivitásai a cianotoxin koncentrációk növekedésével arányosan csökkentek, ezzel szemben a proteáz enzimek mérsékelt aktivitásemelkedést mutattak. Növekedésében a *Spirodela* volt a legérzékenyebb a toxinra. A DN-áz enzimek specifikus aktivitása a toxinkoncentrációval arányos csökkenést mutatott, míg a proteáz enzimek aktivitását a kezelése nem befolyásolták. A MCY kezelt *Wolffia* tenyészetek mutatták a legtöbb változást; a szignifikáns növekedésgátlás a növények klorofilltartalmának a csökkenésével, valamint a DN-ázok és a proteázok aktivitásemelkedésével párosult. A MCY-LR új DN-áz megjelenését is indukálta.

Adataink hozzájárulhatnak a terepi megfigyelések során leírt, a cianobakteriális vízvirágzásokat követő vízínövény közösségek változásainak megértéséhez.

NÖVÉL-4

A *Rosa* L. genusról és a *Rosa sancti-andreae* DÉG. et TRTM. ex. JÁV. új populációjának felfedezéséről

Kerényi-Nagy Viktor

IV. kertészmérnök

BCE KTK Növénytani Tanszék és Soroksári Botanikus Kert

konzulensek: Dr. Udvardy László egyetemi docens

Dr. Ferenczy Antal egyetemi adjunktus

Harmadik éve figyelem azt a *Rosa* taxont, melyet Udvardy László mutatott a Sas-hegy Természetvédelmi Terület egyik északi, házaktól ölelt nyúlványában. Kandidátusi értekezésében *Rosa villosa* L. fajként tünteti fel ezt a taxont. Az általánosan elfogadott vélemények szerint a *Rosa sancti-andreae* DÉG. et TRTM. egy egykor termesztett taxon, mely csak Szentendrén, a Pismány-hegy oldalában, az Antolik villa kertjében, és a szomszéd kertekben maradt fenn. 2006. szeptember 17-én felkerestem a Növénytárban közölt adatok alapján Szentendrén, a Barackos utca 3. számot, mely kertjében már nincsen meg a szentendrei rózsza. Megkerestem az Antolik villát is, mely mintegy 300 m-rel feljebb található a Cseresznyés utca 1. szám alatt. Itt csupán 3 tő szentendrei rózsát találtam, mindösszesen ennyi maradt meg az egykori populációból. Bornemissza úr, akinek jelenleg a tulajdonában van az Antolik villa, elmondta, hogy már csak az a 3 tő található meg Szentendrén. Ez a 3 tő házi kerti körülmények között él. A szentendrei Skanzen háztáji növényekből létesített gyűjteményében *Rosa canina* L. névtábla alatt találtam 1 tő szentendrei rózsát.

A sas-hegyi *Rosa*-taxont idén tavasszal sikerült tisztáznom, mivel jól megfigyelhető minden egyed virágán a jellegzetesen mirigyes szíromszél. A Sas-hegyen mintegy 250 egyedből álló populáció található természetes körülmények között. Ezt fényképen ill. herbáriumként is rögzítettem.

Eredményeim alapján a sas-hegyi állomány az eredeti, endemikus állomány, ahonnan a növényt tetszetős külseje és ízletes gyümölcsei végett telepítettek át az ország néhány pontjára. Új lelőhelyét fedeztem fel a szentendrei rózsának. Morfológiai megfigyeléseimmel, morfometriai méréseimmel és eredményeimmel sikerült bizonyítanom a Sas-hegyen található populáció fajazonosságát. Azáltal, hogy a Sas-hegyen sikerült megtalálnom ezt a populációt és cönológiai felvételeimmel igazolnom eredetiségét, természetességét a területen, a faj flóraelem besorolása nagymértékben megváltozott: kultúr-reliktum helyett *endemikus* faja a magyar flórának. Részletes morfológiai leírást készítettem a szentendrei rózsáról. Dolgozatomban sikerült tisztáznom taxonómiai helyzetét: e faj önálló faji rangon tárgyalandó. Ezeket felül 57 db rendellenességet dokumentáltam 4 rózsza taxonnál, valamint részleteztem az általam megfigyelt terjedési módokat 8 rózsafajnál. A Sas-hegyen kettő, a területre új alfajt találtam meg (*Rosa spinosissima* L. subsp. *pimpinellifolia* L., *Rosa spinosissima* L. subsp. *melanocarpa* LK).

A medvehagyma (*Allium ursinum* L.) nektáriumszerkezete, nektárprodukcója, a nektár és a méz összetétele

Molnár Réka

IV. gyógyszerész

PTE ÁOK

témavezető: Dr. Farkas Ágnes egyetemi adjunktus

A medvehagyma (*Allium ursinum* L.) hagymája és levele mellett a florális nektárából származó méze is értékes gyógyászati szempontból. A nektárt kiválasztó nektárium szerkezetét, a nektárprodukción és -összetételt azonban eddig még nem vizsgálták.

A fentiekre irányuló vizsgálatainkat 2005-ben Orfűn, 2006-ban Árpádtetőn végeztük. A nektár térfogatát kalibrált kapillárisal, refrakcióját kézi refraktométerrel mértük. A szövettani preparátumokat Technovit 7100 műgyantába történő beágyazást követően rotációs mikrotómmal készítettük, majd toluidinkékkel festettük. A nektárcukor összetétel vizsgálatánál az etanol:víz elegyében oldott nektármintákat szilikagél rétegre vittük fel. A kifejlesztéshez etil-acetát : etanol : 60%-os ecetsav : bórsavval hidegen telített víz elegyét, az előhíváshoz pedig timolos kénsavas előhívót használtunk. A mennyiségi kiértékelést denzitometriával végeztük.

Az *A. ursinum* az Alliaceae család többi tagjához hasonlóan szeptális nektáriummal rendelkezik. A mirigy a termőlevelek összenövése mentén, 3 sugárirányú hasíték és azt körülvevő szekréciós szövet formájában jelenik meg. A magház alapi részén, keresztmetszetben, a nektárium epithelialis sejtjei oszlop alakúak, 2 sejtsort alkotnak. Az általuk bélelt hasíték folytatásaként megfigyelhető egy kivezető csatorna, melynek falát izodiametrikus sejtek alkotják. A gynoeceum felsőbb részén már csak az egyre rövidebbé és keskenyebbé váló hasítékot figyelhetjük meg.

A virágok kevés, de tömény nektárt termelnek. A fészlő bimbóban csak kivételesen van nektár, a kinyílt, fel nem nyílt portokú virágokban több a szekrétum, a legjobb nektártermelők a pollenszóró virágok. Ugyanazon virágok több napon keresztül vizsgálatából kiderült, hogy a portok felnyílásakor kezdődik az intenzív nektártermelés, a virág másnap is szekretál nektárt, melynek mennyisége megegyezik vagy több az előző napinál. A 3. napon is van még nektárprodukción, de általában már kevesebb. A 4. napra az öreg virágokban megszűnik a nektártermelés.

A nektár refrakciója is a pollenszóró és öreg virágokban éri el a legnagyobb, akár az 50%-ot is meghaladó értéket. 2005-ben a három fő cukorkomponens (glükóz, fruktóz, szacharóz) közül a szacharóz nem volt kimutatható a nektárban, 2006-ban viszont mindhármát detektáltuk.

A fenti eredmények alapul szolgálnak további vizsgálatokhoz, melyek a nektár és a méz speciális aminosav-származékainak meghatározását célozzák.

A kutatáshoz az OTKA F 048815 sz. pályázat nyújtott anyagi segítséget.

NÖVÉL-6

A Cd okozta fotoszintézisgátlás kivédése a vasellátás növelésével

Solti Ádám

IV. biológus

ELTE TTK Növényélettani és Molekuláris Növénybiológiai Tanszék

témavezető: Dr. Sárvári Éva egyetemi docens

A Cd biológiai funkcióval nem rendelkező toxikus nehézfém, mely számos fiziológiai funkciót, köztük a fotoszintetikus apparátus működését is befolyásolja. Hatásában a membrán- és enzimműködés gátlása mellett fontos, hogy kétértékű kationként esszenciális nehézfém-ionokkal verseng. Jelentősen befolyásolja a növény vasháztartását, gátolja a gyökérből levelekbe való feljutását, emiatt vashiányra emlékeztető tüneteket okoz. Vas hiányában zavart a klorofilok és a vastartalmú proteinek képződése. A Cd-Fe interferencia ismeretében várható, hogy a vasellátás növelése pozitív hatású. A Cd-kezeléssel együtt alkalmazott nagyobb vasellátás esetén azonban a Cd hajtásba való transzlokációja is csökken. Vizsgálatainkban ezért a már tüneteket mutató növények vasellátását növeltük meg, annak tisztázására, hogy a Cd hatásaiban a vashiány mekkora szerepet játszik.

A növények egy héten át 10^{-5} M $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ -ot kaptak, majd az ezt követő két héten kezelésként normál (10 μM Fe-citrát), illetve ötszörös mennyiségű vasat adagoltunk Cd mellett vagy anélkül a tápoldatba. Regeneráltatás hatására a kezelés alatt fejlődött levelek felületnövekedése nem állt helyre egyik regenerátatási forma esetén sem, illetve nem volt helyreállítható a kék és zöld tartományba eső fluoreszcencia sem. A fotoszintetikus paraméterekre azonban jelentős pozitív hatásokat gyakorolt a vasellátás növelése. Helyreállítható volt a kezelés alatt fejlődött levelek CO_2 -megötése, a PSII aktivitását jelző $\Delta F/\text{Fm}'$ paraméter, a nem-fotokémiai kioltás mértéke, a levelek Chl-tartalma, Chl *a/b* aránya, illetve vörös/távoli vörös fluoreszcencia-arányuk. A helyreállítás dinamikája alapján a legérzékenyebb paraméterek a Chl *a/b* arány és a $\Delta F/\text{Fm}'$. Minden esetben a magasabb vastartalmú tápoldaton végrehajtott regeneráció eredményezte a paraméterek gyorsabb helyreállítását. Javulást okozott a Cd mellé adagolt megemelt vasmennyiség is. Tehát a Cd-stressz okozta vashiánynak a Cd-okozta fotoszintézisgátlásban kulcsfontosságú szerepe van, a vasellátás növelése alkalmas a Cd miatt kialakuló fotoszintetikus tünetek orvoslására.

NÖVÉL-7

**Etioláltsági tünetek fényen nőtt napraforgó (*Helianthus annuus* L.) sziklelevelében a
termésfal által részlegesen takart régiókban**

Vitányi Beáta

V. biológus

ELTE TTK Növény szerzettani Tanszék

témavezetők: Dr. Solymosi Katalin egyetemi tanársegéd

Dr. Böddi Béla egyetemi tanár

A klorofill (Kl) bioszintézis kulcslépését, a protoklorofillid (Pklid)-klorofillid (Klid) átalakulást a NADPH:protoklorofillid oxidoreduktáz (POR) katalizálja. Az élővilágban két típusa ismert, az egyik működése fényt igényel (Light-POR), míg a másik típus sötétben is aktív (Dark-POR). A növényekben általában mindkét típus megtalálható, de zárvatermőkben csak a fényfüggő enzim van jelen. Ezért sötétben a Kl bioszintézis gátolt, csak előanyagok (Pklid) keletkeznek, etioplasztiszok alakulnak ki, a növények halványsárga színűek és megnyúltak.

A Kl bioszintézis, a plasztisz-differenciáció és a zöldülési folyamatok tanulmányozására általában mesterséges körülmények között, sötétben nevelt csíranövényeket használnak. Felmerül a kérdés azonban, hogy az így kapott eredmények mennyire jellemzik a természetes állapotokat, illetve a laboratóriumokban alkalmazott tartós sötétben nevelés (etiolálás) tünetei előfordulnak-e a természetben.

Munkámban fényen nevelt napraforgó (*Helianthus annuus* L.) sziklevel termésfal által takart részein kialakult részleges etiolált állapotot tanulmányoztuk a pigmentek meghatározásával, 77 K fluoreszcencia spektroszkópiai, fluoreszcencia leképezéses, és fluoreszcencia kinetikai valamint elektronmikroszkópos módszerekkel.

Megállapítottuk, hogy Pklid-komplexek, prolamelláris testek (PLT) és Kl-protein komplexek egyaránt kialakulnak a fedett régióban. Megjelenik a működő fotoszintetikus apparátus és redukált formában a fotoszintetikus elektron transzport lánc is. A fényen fejlődött rész felé haladva a Pklid-komplexek aránya fokozatosan csökkent, míg a Kl-protein komplexek egyre dominánsabbá váltak; ezzel párhuzamosan a fotoszintetikus aktivitás fokozatos növekedését tapasztaltuk. Meglepő módon a fényen nőtt területen is megtalálhatók az etiolált növényekre jellemző PLT-ek a kifejllett gránumok mellett, bár Pklid nem mutatható ki a mintákban. Ez arra utal, hogy nem szükséges a PLT-ek lebontása és építőanyagaik felhasználása a tilakoid membránok létrehozásához.

Eredményeink azt bizonyítják, hogy a termésfal alatt létrejövő alacsony fényintenzitáson kialakulhatnak, illetve több napig fennmaradhatnak az eddig leginkább csak laboratóriumi vizsgálatokban megfigyelt etioláltsági tünetek a természetben is. Tehát a mesterségesen hosszú ideig sötétben nevelt növények jó modelljei a Kl bioszintézis befejező lépéseit és a plasztisz-differenciálódást tanulmányozó kutatásoknak.

NÖVÉNYI MOLEKULÁRIS BIOLÓGIA ÉS GENETIKA TAGOZAT

NÖVMOL-1

Géncsendesítésre alkalmas vektorrendszerek kidolgozása és alkalmazása egy- és kétszikű növényekben

Boldizsár Ákos és Galambos Anikó

V. biológia-környezettan; biológus

PTE TTK Növényélettani Tanszék, Genetikai és Molekuláris Biológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Jakab Gábor egyetemi docens

Dr. Putnoky Péter egyetemi tanár

A géncsendesítés egy nemrégiben megismert mechanizmus, amely növényi (és egyéb) szervezetekben gének expresszióját képes módosítani, így egyúttal lehetőséget biztosít a gének funkcióinak további megismeréséhez. Az RNS interferencia során duplaszálú RNS (double stranded, dsRNS) indukálja a géncsendesítést. Ekkor a dsRNS a sejtben rövid, jellegzetes struktúrájú és méretű darabokra vágódik (small interfering RNS, siRNS) melyek később szekvencia specifikus módon segítik az mRNS degradációját. A dsRNS termelésére és sejtekbe juttatására sokféle módszert dolgoztak már ki. Az RNS vírusok hasznosítása vagy dsRNS konstrukciók agrobaktérium általi bejuttatása széles körben elterjedtek.

Egy alternatív módszer esetében közvetlenül rövid shRNS-t (short hairpin RNS, hajtű RNS) termeltetünk in vivo RNS polimeráz III. enzimmel, melyek azután kiváltják a megfelelő gén csendesítését. Állati sejtekre már kidolgoztak egy U6 snRNS promóter alapú klónozó rendszert. Ez a rendszer az emberi U6 gén promóterét tartalmazza, melynek működése különbözik a növényi promóterétől. Ezért izoláltuk és klónoztuk a szőlő U6 promóter régióját és ennek segítségével létrehoztunk egy vektort (pRDU6P1), ami képes lehet shRNS szintézisére növényekben. A vektor expressziós kazettáját átvittük bináris vektorba, amit a növények levelébe agroinfiltráció segítségével juttattunk be.

Ezzel párhuzamosan teszteltük a dsRNS közvetlen növényi sejtbe juttatásának lehetőségét is. Ekkor a dsRNS-t in vivo baktériumokkal, vagy in vitro a T7 RNS polimeráz enzimmel termeltethetjük meg a pL4440 plazmid segítségével.

Kísérleteinkben a géncsendesítés tesztelésére a fitoén deszaturáz (PDS) gént használtuk fel kukorica és *Arabidopsis* tesztnövényekben. PCR technika segítségével izoláltuk a gén 3' végét, amit több klónozási lépésen keresztül a pL4440 vektorba építettünk be. E konstrukciók segítségével sikerült dsRNS-t termeltetnünk mind in vivo, mind in vitro. Az így nyert dsRNS-t többféle módszerrel – közvetlen injektálás, felszívás, vákuminfiltráció – próbáljuk a növényekbe bejuttatni. E módszerek tesztelése folyamatban van.

Az *Arabidopsis* PDS génre megterveztünk két oligonukleotid primert is, amelyek hibridizálásával és klónozásával létrehoztuk az shRNS termeltetésére alkalmas konstrukciót, amelyet a pZP111 bináris vektorba építettünk, majd e vektort agrobaktériumba vittük be. A baktérium sejteket ezután injektálással vagy vákuminfiltrációval juttatjuk *Arabidopsis* levelekbe. E konstrukció tesztelése is folyamatban van.

NÖVMOL-2

Iparilag hasznosított enzimet termelő transzgénikus árpa előállítása

Csóti István

IV. biológus

ELTE TTK Növényélettani és Molekuláris Növénybiológiai Tanszék

témavezető: Dr. Tamás László egyetemi docens

A transzgénikus élelmiszerek az utóbbi évtizedben a figyelem középpontjába kerültek, megítélésük pedig mindinkább negatív. A növénytranszformáció újszerű alkalmazásai, mint az ipari enzimeket környezetkímélően és olcsón előállító biofermentorok azonban pozitív hatással lehetnek a GMO-król alkotott képre. Az árpa hazánkban széleskörűen termesztett gabonanövény, egyes fajtái kiváló regenerációs képessége a szövettenyésztést megkönnyíti. Gyors, megbízható transzformációjára azonban ma még csak kevés helyen képesek. A nyúl májból izolált karboxilészteráz enzim képes királis gyógyszeralapanyagok sztereospecifikus hasítására, ezáltal a gyógyszeriparban hatóanyag-dúsításra használható. Célunk egy árpa transzformációs rendszer létrehozása és optimalizálása, iparilag hasznosított enzimet termelő GM növények előállítására.

Munkám során először a transzformációs rendszer jellemzéséhez szükséges, *uidA* riportergént tartalmazó transzformációs kazettákat készítettem el, konstitutív és szövet-specifikus promóterekkel. A kazetták szelekciós célra konstitutívan kifejeződő higromicin rezisztencia (*hpt*) gént hordoztak. A konstrukciókat *Agrobacterium tumefaciens* AGL0 törzsekbe juttattam, melyekkel Golden Promise árpa éretlen embriókat fertőztem. A transzformált embriókból kalluszindukciós, hajtásregenerációs és gyökérregenerációs lépések után teljes transzgénikus növényeket neveltem. A transzformációs eseményeket az indikátorgén tranziens expressziójának GUS-festéses nyomonkövetésével vizsgáltam. A stabil transzformánsokban hisztokémiai festéssel és PCR-es kimutatással ellenőriztem a transzgén jelenlétét, több fejlődési stádiumban. A kifejlett transzgénikus növények vizsgálata még tart. Elkészítettem a nyúl máj karboxilészteráz enzim génjét és a *hpt* szelekciós rezisztencia gént tartalmazó kazettát, mellyel már megkezdjük a transzformálást.

Az *Arabidopsis thaliana* aldóz/aldehid reduktázok vizsgálata az *in silico* génexpressziós analízistől a funkció elemzéséig

Kis Petra

biológus (2006)

SZTE TTK Növényélettani tanszék

témavezető: Dr. Horváth V. Gábor tudományos főmunkatárs

konzulens: Dr. Mainé Csiszár Jolán egyetemi adjunktus

A különböző stressz körülmények következtében a növényi sejtben megnő mind a reaktív oxigénformák (ROS), mind a toxikus anyagcsere melléktermékek mennyisége, mely sejtkárosodáshoz vezet. Az aldóz/aldehid reduktázok – más enzimekkel együtt – eliminálni képesek a lipid peroxidáció és a glikolízis során keletkező reaktív aldehideket, tehát detoxifikáló hatásúak. Más fontos funkciójuk, hogy katalizálják a cukor alkoholok (szorbitol, mannitol) szintézisét, melyek alacsony koncentrációban gyökfógó tulajdonságúak, a sejtekben ozmolitként felhalmozódva a turgorállapot megőrzésével a szárazság toleranciát növelik.

Bár az MsALR enzimet lucernából (*Medicago sativa*) izolálták, a fehérje más, szárazságtűrő növényekben (mint például *Xerophyta viscosa*) is megtalálható. Az enzim védőfunkcióit különböző stresszhatásoknak (szárazság, hideg, UV-B, nehéz fém) kitett transzgenikus dohány növényekben vizsgálták.

Az oxidatív stressz kivédése és a biomolekulák károsodását okozó reaktív molekulák mennyiségének csökkentése elősegítheti a növényekben az abiotikus stressz tolerancia megnövelését. Így az aldo/keto reduktáz családba tartozó enzimek vizsgálata kiemelt fontossággal bír a mezőgazdasági alkalmazás szempontjából is.

Arabidopsis thaliana-ban az aldóz reduktáz homológok *in silico* elemzése 22 különböző gént eredményezett, melyek azonosítását, génexpressziós vizsgálatát a rendelkezésre álló DNS microarray adatok alapján végeztem. A gének bővebb elemzése két knock-out inszerciós mutáns (At2g37770, At5g01670) vizsgálatával kezdődött meg, melyek genotípusát először PCR segítségével ellenőriztem.

NÖVMOL-4

Kórokozók elleni védelem paprikában

Kiss Zsófia

IV. biológus

SZTE TTK Genetikai és Molekuláris Biológiai Tanszék

témavezető: Dr. Csilléry Gábor tudományos munkatárs

konzulens: Dr. Maróy Péter egyetemi tanár

A paprika, mint haszonnövény nagyon régóta ismert, és számos országban az étkezés fontos része, így Magyarországon is, ahol nem csak, mint étkezési paprikát fogyasztunk, hanem főzött ételeink, így például a híres magyar gulyáslevesnek a fűszerpaprika is elengedhetetlen kelléke. Országunk olyan klimatikus viszonyokkal rendelkezik melyek a paprika termesztését mind szabadföldön, mind fóliában lehetővé teszik. A szabadföldön termesztett paprika kultúrák ki vannak téve a természetben előforduló kórokozóknak, így a vírusoknak, és fonálférgeknek (Nematoda fajoknak), de a bakteriális megbetegedés is számottevő. Ezért jelentős a *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* baktérium által okozott megbetegedés genetikai hátterének tanulmányozása. Munkám kiterjedt az ellenálló (rezisztens) és érzékeny (szenzitív) paprika fajok elkülönítésére, és azok molekuláris genetikai markerekkel történő azonosítására. Az irodalomban korábban közölt rezisztencia gén genetikai régiójának megfelelő szenzitív növény genomi vizsgálata volt a feladatom. Ezért vizsgáltam, hogy azon fajok melyek fogékonyak, milyen allélt hordoznak kromoszómájukon a domináns jellegű rezisztencia génnel "szemben". Valamilyen mutáció érte-e az aktív gént ezzel inaktívvá géntermékének funkcióját, vagy nem is rendelkeznek a gén mutáns változatával, mert delécio távolította el a rezisztencia gént. Ezeknek a kérdéseknek a megválaszolásával lehetőség nyílna olyan molekuláris markerek tervezésére, vagyis allél specifikus primerpárok előállítására, melyek PCR segítségével az ellentétes allélok kimutatására ad lehetőséget. Ez a módszer a homozigóta szenzitív, illetve a homozigóta és heterozigóta rezisztens egyedek kiválasztására adna alkalmat, ami egyszerűsítene és gyorsítaná a nemesítést, valamint elkerülhető lenne a biológiai teszt, mely a környezetre veszélyes, patogén baktériummal végrehajtandó fertőzést igényel. Rezisztens növényfajták nemesítése fontos feladat és több szempontból is előnyös, melyek közül a növényvédőszer alkalmazásának visszaszorítása, és a költségek csökkentése (nem kell növényvédőszert alkalmazni, kevesebbszer kell a termőföldre rámenteni) említésre méltó.

Az ABA1 gén expressziójának szabályozása *Arabidopsis thaliana*-ban

Nagy Ágnes

V. biológus

PTE TTK Növényélettani Tanszék

témavezető: Dr. Jakab Gábor egyetemi docens

Az abszcizinsav (ABA) fitohormon fontos szerepet játszik a növényi fejlődés több aspektusában, a gázcserenyílások működésének szabályozásában, valamint a különböző környezeti hatásokra bekövetkező adaptív válaszok iniciálásában. A szárazsághoz, alacsony hőmérséklethez és sótartalomhoz történő alkalmazkodás ABA-dependens és ABA-independens szignálutak kombinált aktivitásával valósul meg. Abiotikus stressz hatására ABA akkumulálódik a növényekben, és ma már az is ismert, hogy az ABA hatással van a növény – patogén interakciók végkifejletére is.

A β -amino-vajsav (BABA, egy nem fehérjealkotó aminosav) kezelés fokozza a növények biotikus és abiotikus stresszhatásokkal szembeni ellenálló képességét. Valójában a BABA az alap védekező válaszok kapacitását növeli meg, ezt a jelenséget primingnek nevezzük. Nagy mennyiségű BABA azonban sterilitást indukál *Arabidopsis*-ban. Ezen a megfigyelésen alapuló mutánskeresést végezve sikerült BABA rezisztens (*ibs*) növényeket találni. A mutánsok közül az *ibs3* mutáns az *ABA1* gén – amely a zeaxantin-epoxidázt, az abszcizinsav bioszintézisének egyik enzimét kódolja – lokuszában módosult. Az egyetlen kópiában előforduló *ABA1* gén downstream régiója tartalmaz ugyanis egy T-DNS inszerciót, amely relatíve messze (350bp-rel lejjebb) esik transzkriptálódó régiótól. Kísérleteinkben azt vizsgáltuk, vajon ezen downstream régió miképpen befolyásolja az *ABA1* gén expresszióját stressz körülmények között.

Munkánk kezdeti fázisában a célkitűzéseknek megfelelő vadtypusú, illetve mutáns *Arabidopsis* növényeket hathetes korukig neveltünk. A növényeken só-stressz kezelést alkalmaztunk, négy vizsgálati csoportot alakítottunk ki:

- Az első csoportot 0mM-os
- A másodikat 150mM-os
- A harmadikat 300mM-os
- A negyediket 500mM-os NaCl-oldattal kezeltük 24 órán át.

Az *ABA1* génre és további ABA-indukálta markergénekre specifikus primerekkel végzett szemi-kvantitatív PCR-rel vizsgáltuk a génexpresszió változásait a só-stressz hatására. Azt találtuk, hogy az *ABA1* gén expressziójának stressz indukálta emelkedése az *ibs3* mutánsban alacsonyabb. Ez alátámasztja azt a feltételezésünket, hogy a BABA-IR során fontos szerepet tölthet(nek) be a gén downstream régiójában található szabályozó elem(ek). E hipotézis további vizsgálatára repórter génkonstrukciók készítését kezdtük meg.

NÖVMOL-6

**A plasztidikus glutamin-szintetáz alumínium(III)NTA komplexszel történő
aktiválásának tanulmányozása in vitro**

Nagy Zoltán

V. alkalmazott növénybiológus

SZTE TTK Növényélettani Tanszék

témavezető: Dr. Pécsváradi Attila egyetemi docens

A Föld népességének élelmezésében fontos szerepe van a gabonaféléknek. Terméshozamukat nagymértékben meghatározza a nitrogén ellátottságuk. A nitrogén metabolizmus egyik kulcsenzime a glutamin-szintetáz (GS, EC 6.3.1.2), nem csak a növényekben, hanem a legtöbb élő szervezetben is. Növényekben az elsődleges N asszimiláció mellett bizonyítottan fontos szerepe van a fotorespiráció és a protein degradáció folyamatában keletkező ammónia re-asszimilációjában, így megakadályozza a nagy energia befektetéssel felvett nitrogén elvesztését. Az eukarióta GS-nek alegységenként két divalens fémiont kell kötnie a megfelelő működéshez, emiatt a GS valószínűleg érzékeny a fémstresszre.

A mezőgazdasági művelés alatt álló területek egy jelentős része savas kémhatású, általában a helytelen műtrágyázás, a légkörből a talajoldatba beoldódó kén- és nitrogén-oxidok, vagy az alapkőzetet alkotó vegyületek miatt. Az alacsony pH eredményeként a talaj agyagásványaiból a növényekre toxikus fémionok, főleg Al^{3+} válik szabadddá.

A növényeknek több különféle védekezési stratégiájuk van a toxikus Al-fajokkal szemben. Ezek közül az egyik legfontosabb, hogy a növény szerves komplexképző vegyületeket halmoz fel a citoplazmájában és/vagy a rizoszférában, ugyanis ha az alumínium komplexet képez ezekkel a vegyületekkel toxicitása megszűnik, illetve a komplexek új tulajdonságokra tesznek szert.

Korábbi kísérletekből tudjuk, hogy az Al(III)NTA (alumínium-nitrilo-triacetát) komplex növeli a búza (*Triticum aestivum* L.) leveléből izolált GS aktivitását *in vitro* körülmények között. Kinetikai kísérletekkel igazoltuk az Al(III)NTA aktiváló hatását, valamint megvizsgáltuk a natív poliakrilamid gélelektroforézissel izolált GS2 izoenzimben a magnézium és az alumínium jelenlétét ICP (induktív csatolású plazmaemissziós spektrometria) technikával. A kontroll mintában csak magnéziumot találtunk, de az Al(III)NTA-val kezelt mintákban a GS2-höz kötődve sikerült az alumínium jelenlétét kimutatnunk a magnézium mellett. A mennyiségi adatok azt mutatják, hogy az aktiváló hatást úgy fejt ki az Al(III)NTA, hogy az alumínium hozzákötődik a GS egyik specifikus fémkötő helyéhez, de a magnézium jelenléte is szükséges az aktiváláshoz.

Hazai *Agropyron* és *Elymus* taxonok jellemzése molekuláris markerekkel

Szalontai Bálint

V. biológus

PTE TTK Növényrendszertani és Geobotanikai Tanszék

témavezető: Stranczinger Szilvia tudományos segédmunkatárs

Molekuláris taxonómiai kutatásaink elsődleges célpontja egy hazai nemesítésű energianövény a „Szarvasi-1 energiafű” (*Elymus elongatus* subsp. *ponticus* cv. 'Szarvasi-1'), másodsorban rokon nemzetségek, fajok, a Poaceae család Triticeae tribuszából.

Meghatároztuk a vizsgált taxonok (hazai *Elymus* és *Agropyron* fajok valamint maga a 'Szarvasi-1' fajta) rpoA génlókuszának és ITS régiójának DNS szekvenciáit, majd az így nyert adatokkal – génbanki szekvenciákkal kiegészítve – filogenetikai analízist végeztünk. A kapott törzsfákon a korábban egy nemzetségbe sorolt hazai fajok különböző kládokon jelentkeztek, míg más nemzetségek erősen monofiletikusnak mutatkoztak. A fajtához és szülőfajához az *E. repens* került a legközelebb, ez fontos információ lehet a nem kívánt hibridizációs lehetőségek felméréséhez.

Interspecifikus RAPD vizsgálataink eredményei ugyancsak megerősítették a szekvencia adatok alapján valószínűsíthető, nagymértékű genetikai különbségeket.

Interpopulációs RAPD vizsgálataink során a 'Szarvasi-1' szülőfajaként jegyzett *Elymus elongatus* subsp. *ponticus* (Podp.) Melderis hazai populációit vizsgáltuk. A faj a magyar flórában három szigetszerű, izolált populációval képviselteti magát, zavart degradált élőhelyeket népesít be. Szerettünk volna információkat kapni arra vonatkozólag, hogy ez az elterjedési mintázat egy földtörténeti időben lezajlott área regresszió nyomán alakult ki, vagy újkori, gyomjellegű lokális kivadulások eredménye. Fontos ugyanis, hogy az alapfaj milyen migrációs képességeket örökíthetett a 'Szarvasi-1' fajtának, tehát mennyire várható annak nem kívánt kivadulása mezőgazdasági területekről. A kapott adatok a faj őshonosságát megkérdőjelezzik, inkább az újkori, emberi közreműködéssel bekövetkezett meghonosodást valószínűsítik. Vizsgáltuk továbbá az alapfaj és a 'Szarvasi-1' genomi szintű hasonlósági viszonyait és megállapítottuk, hogy a fajta a hortobágyi populációval mutat erős genetikai hasonlóságot.

Intraspecifikus RAPD analízissel a 'Szarvasi-1' energiafű DNS szintű változatosságát vizsgáltuk. Eredményeink alapján a taxon genetikailag egységes, a kísérletekben használt minták reprezentatívnak tekinthetők a fajtára nézve.

NÖVMOL-8

Üzenetküldés a mitokondriumból a plazmalemma felé növénysejtekben

Tóth Tünde

III. biológus

SZTE TTK Növénytani Tanszék

témavezető: Dr. Laskay Gábor egyetemi docens

Az utóbbi évek sejtbiológiai kutatásai rávilágítottak arra, hogy a mitokondrium nemcsak a sejt energetikai központja, hanem alapvető sejtélettani folyamatok (pl. programozott sejthalál) résztvevője, illetve elindítója is, mind az állati-, mind pedig a növénysejtekben. Ez a tény valószínűsíti, hogy a mitokondrium állapotában, működőképességében bekövetkezett változásról a sejtnak azonnal tudomást kell szereznie és felveti azt az érdekes lehetőséget, hogy intracelluláris szignalizációs útvonalak működhetnek a mitokondrium és a sejt többi része között. Kísérleteimben azt vizsgáltam, hogy létezik-e sejten belüli üzenetküldés a mitokondrium és a plazmalemma között. Mitokondriális gátlószerekkel (kálium-cianid és dinitro-fenol) kezeltem a vöröshagyma (*Allium cepa* L.) allelélének epidermisz-sejtjeit és ezt követően mértem a transz-plazmalemma elektron-transzport aktivitását. A méréseket a sejtek életképességének tanulmányozásával is kiegészítettem. Eredményeim szerint a mitokondriális gátlószerek már néhány perces kezelés után befolyásolták a transz-plazmamlemma elektron-transzport aktivitását. Ezek az eredmények arra engednek következtetni, hogy növénysejtekben létezik egy közvetlen intracelluláris szignalizációs útvonal a mitokondrium és a plazmalemma között.

NÖVÉNYÖKOLÓGIA 1. TAGOZAT

NÖVÖKOL1-1

Talajlégzés komponenseinek azonosítása

Biró Marianna

III. környezetgazdálkodási agrármérnök

SZIE MKK KTI Növényteni- és Növényélettani Tanszék

témavezetők: Dr. Nagy Zoltán egyetemi docens

Balogh János tudományos segédmunkatárs

Különböző ökoszisztémák globális szénforgalomban játszott szerepe és ezzel kapcsolatban a globális klímaváltozás várható hatásainak előrejelzése egyre nagyobb teret kap a nemzetközi és hazai tudományos életben. Ahhoz, hogy a szénforgalomban betöltött szerepüket megismerhessük, és a várható melegedésre és csapadékeloszlás-változásra adott válaszaikat becsülhessük, CO₂-gázcserejük intenzív kutatására van szükség. A növényállományok szénforgalmának eredőjét szénmérlegnek nevezzük, ennek egyik legfontosabb komponense a talajlégzés. Mivel a talaj folyamatosan bocsát ki CO₂-ot – így kedvezőtlen időszakban is, mikor a fotoszintézis nem, vagy csökkent hatásfokkal működik – a folyamatnak meghatározó szerepe van az ökoszisztémák forrás vagy nyelő aktivitásának kialakításában.

A dolgozat célja a hazánkban nagy területeken megtalálható homoki legelő (*Festucetum pseudovinae*) talajlégzésének kvantifikálása, illetve a gyökérlégzés részarányának meghatározása, ezen belül a gyökerekből és a SOM-ból (talaj szerves anyaga) származó CO₂-kibocsátás elkülönítése, részarányának megállapítása különböző körülmények – elsősorban talajnedvesség és hőmérséklet, valamint a vegetáció állapotának – hatására. Ehhez bugaci terepi gázcsere méréseket, illetve talaj monolitokon, valamint laborban végzett gyökérlégzés-méréseket használ fel. A gázcsere mérésekhez Licor-6400 és Licor-6200 infravörös gázanalizátort és a hozzá tartozó zárt rendszerű talajlégzés-mérő kamrát használtunk.

Az eredmények alapján elmondható, hogy a gyökérlégzés intenzitása visszaesik a száraz időszakokban, azonban a mikrobiális légzés ekkor is jelentős. A gyökérlégzés intenzitását a talajhőmérséklet és víztartalom mellett jelentősen befolyásolja a fotoszintézisből származó szubsztrátok mennyisége is.

A mérések eredményeinek felhasználásával modellezni szeretnénk a talajlégzés-intenzitást a meteorológiai adatok felhasználásával, amellyel lehetővé válik az esetenkénti mérések közti időszakok légzési aktivitásának becslése.

NÖVÖKOL1-2

Egy alpesi gyeptársulástípus talajlégzésének jellemzése

Bajó Róbert

III. környezetgazdálkodási agrármérnök

SZIE MKK NETT

témavezetők: Dr. Tuba Zoltán egyetemi tanár

Dr. Michael Bahn tanársegéd

Jóllehet a talajlégzés az ökoszisztémák szénkörforgalmában rendkívül nagy jelentőséggel bír, a gyeptársulásokban az erre vonatkozó ismereteink jelenleg mégis hiányosak. Különösen igaz ez a mérsékelt övi gyepek esetében. Jelen munkám célja egy magas hegyvidéki gyeptársulástípusban a talaj szén-dioxid leadásának napszakos és évszakos jellemzése és annak fontosabb környezeti és biotikus tényezőktől való függésének a megismerése volt.

Vizsgálataimat Ausztriában, a Stubai-völgyben, 1000 m tsz.f.m. lévő kaszált, legelőként is használt, alpi gyeptársulástípusban végeztem 2005 augusztusa és 2006 szeptembere között. A talaj szén-dioxid leadás intenzitásának (talajlégzés) mérését hordozható infravörös gázanalizátorral zárt rendszerben, nyomáskiegyenlített kamrával; a talajnedvesség mérését Theta-készülékkel végeztem. A talajlégzés méréseire mindig ugyanazon, a mérőkamra csatlakoztatására szolgáló műanyaggyűrűkkel megjelölt, minimálisan hat helyen került sor; minimálisan napi (5-21)*6 ismétlésszámban. A gyökérszáraztömeg vizsgálata talajmintavevő segítségével, a szokásos thermogravimetriás módszerrel történt. Az összefüggések megállapítására korrelációs számításokat végeztem, és statisztikai programokat használtam.

A talajlégzés a talajhőmérséklettel és a talajnedvességgel (abiotikus tényezők) statisztikailag szignifikánsan korrelált. A talajlégzés értékek nagy területi variabilitással rendelkeznek. A talajlégzés napi ill. évszakos menete és a hőmérséklet között a legszorosabb illesztést az exponenciális görbe adja. A talajlégzés egy meghatározott szinten, nagyon alacsony hőmérsékleten ill. télen is tovább folyik. A talajnedvesség csak másodlagos szerepű volt a hőmérséklet mellett a légzés intenzitásának meghatározásában; a talajnedvesség az ökoszisztémában nem limitáló tényező. A talaj víztartalmától való függés polinomiális harmadfokú görbével írható le leginkább.

Vizsgálataim alapján megállapítható, hogy a talajlégzés a gyökérszáraztömeg frakciók közül csak a fiziológiailag aktív, 1 mm-nél kisebb átmérőjű (hajszerű) gyökerek mennyiségével mutatott összefüggést. Azonban a gyökértömeg nagysága és a talajlégzés közötti összefüggés a statisztikai szignifikancia ellenére sem volt egyértelműen igazolható (az abiotikus tényezők befolyása miatt).

NÖVÖKOL1-3

A lékméret hatásának vizsgálata a fásszárú újulat és a lágyszárú aljnövényzet megtelepedésére szubmontán bükkösben

Kelemen Kristóf

V. biológus

ELTE TTK Növényrendszertani és Ökológiai Tanszék

témavezető: Standovár Tibor

A finom-léptékű bolygatások alapvetően meghatározzák a közép-európai bükkösök dinamikáját. A bemutatásra kerülő hosszú távú kísérlet célja a környezeti tényezők és a növényzet tér- és időbeli változásának követése kisebb facsoportok kivágása következtében keletkező hiányfoltokban. Elsősorban arra keressük a választ, milyen hatással van a lékméret a fásszárú újulat tömegességére és térbeli eloszlására, valamint a lágyszárú növényzetre.

Céljaink megvalósítása érdekében nyolc mesterséges lék – három nagy (35-40 méteres átmérővel) és öt kis méretű (10-15 méteres átmérővel) – került kialakításra 2001 elején. A vizsgálati helyszínen kb. 90 éves szubmontán bükkös állomány található. A növényzeti felmérés, valamint az aljzattípusok arányának rögzítése szisztematikus mintavétel szerint, 1x1 méteres mintavételi négyzetekben történt. 2000 őszén, a lékek megnyitását megelőzően rögzítettük a kezdeti állapotot, majd ezt követően eddig összesen hat alkalommal végeztünk mintavételt. A növényzeti adatokon túl az előzetesen fontosnak gondolt fényintenzitást és az aljzattípusok arányát is mértük.

Az eddigi adatok alapján megállapítható, hogy a bükk felújulása a kisebb, fél fahossz átmérőjű lékekben is lehetséges. A lékméret hatása mellett az egyes lékek között nagy fokú változatosságot találtunk. Minden évben találtunk újonnan megtelepedett magoncokat, a betöltődés folyamatos, ugyanakkor időben is változatos a megtelepedés alakulása elsősorban a magszórás változatossága miatt. A pionír fafajok közül a kecskefűz a nagy lékek legvilágosabb területein telepedett meg legnagyobb számban.

A lágyszárú aljnövényzet azokon a területeken, ahol a fényintenzitás megnőtt, rövid idő alatt nagy borítást ért el. A növényzet összetétele kezdetben a lokális tényezőktől függött, amely hatást az eltelt hat év alatt a fény-gradiens szerepe teljes mértékben felülírt. Az egyes fajok eltérő stratégiákat alkalmaznak, amely a lékek betelepülésének dinamikáján egyértelműen követhető. A vágásnövényzet fajai a világosabb területeken tömegesek, azonban a lékek szélén a zárt lombérdei fajok is megtalálják életfeltételeiket.

A felújulás dinamikájának teljesebb megértéséhez a kísérletek további folytatása szükséges.

Gyapjaslepke (*Lymantria dispar*) gradáció hatása cseres-tölgyes erdő lombkorona-szintjében a síkfőkúti ILTER területen

Koncz Péter

V. biológus-ökológus

DE TTK Növénytani Tanszék

témavezető: Dr. Mészáros Ilona egyetemi docens

Az utóbbi években a középhegységi erdeinkben a gyapjaslepke nagymértékű hernyógradációja lépett fel, amely érintette a Bükk-hegységi "Síkfőkút Projekt" ILTER kutatási terület cseres-tölgyes állományát is.

A dolgozatban a hernyógradáció hatását mutatom be cseres-tölgyes erdő két domináns fafajának (*Quercus petraea* és *Quercus cerris*) levélnövekedésére a lombkorona különböző szintjeiben a 2003-2006 között végzett vizsgálatok eredményei alapján.

A gradáció legnagyobb hatása 2005-ben jelentkezett, amikor is június közepére a kocsánytalan tölgy leveleinek területvesztesége 40-60%-os volt, a csertölgy fájnak lombkoronája pedig tarra rágottá vált. Az ezt követő újralombosodás sebessége fajonként és szintenként igen eltérőnek bizonyult de kiemelendő, hogy a csertölgy fényszintjében tapasztaltuk a legintenzívebb – a 2003, 2004, 2006 évekhez hasonlatos – másodlombosodást.

A 2005. júniusi másodlombosodás eredményességét tekintve a két faj között jelentős különbségek mutatkoztak. A csertölgy esetében az újonnan kifejlett levelek területe és tömege megközelítette a korábbi és későbbi években (2003, 2004, 2006) tapasztalt értékeket. A kocsánytalan tölgy esetében az újonnan kifejlett levelek területe és tömege 60-65 %-kal alacsonyabb volt a 2003-2004-es évekhez képest.

2006-ban a két faj között jelentős levélprodukcióbeli különbségeket tapasztaltunk a csertölgy "javára". A kocsánytalan tölgy kifejlett leveleinek területe és tömege a 2006 évi vegetációs időszakban a 2003 és 2004 évekhez képest is jelentősen kisebb volt.

Az eredmények azt jelzik, hogy az erdőállomány két fafajánál a 2005 évben fellépett gradáció utáni felépülés különböző mértékben játszódott le. Továbbá arra is rámutatnak, hogy a 2006 évi vegetációs periódusban a két faj faj vitalitását a megelőző gyapjaslepke gradáció nagyon eltérően befolyásolta.

NÖVÖKOL1-5

Tavaszi erdei geofitonok ökológiai és ökofiziológiai vizsgálata, valamint szerepe a magyarországi szénmérlegben

Nagygyörgy Emese Dalma, Németh Zoltán és Varga Enikő

III. agrármérnök; III. agrármérnök; I. fogorvos

SZIE MKK Növénytan- és Növényélettani Tanszék; PTE Általános Orvostudományi Kar

témavezetők: Czóbel Szilárd tudományos munkatárs

Péli Evelin Ramóna tudományos segédmunkatárs

A TDK dolgozat fő célkitűzése három eltérő morfológiájú, tavaszi erdei geofiton növényfaj (*Anemone ranunculoides*, *Corydalis solida*, *Ranunculus ficaria*), valamint az általuk dominált növényállományok több tudományterületet felölelő vizsgálata volt. A kiválasztott taxonok teljes életciklusát lefedő, *in situ* jellegű kutatás három állandó állományfolton történt. A kutatott növényfajok és állományaik hazánk számos növénytársulásában és élőhelyén előfordulnak, továbbá meghatározó összetevői a tavaszi geofiton aszpektusnak.

A kutatás során a mikrometeorológiai (talajhőmérséklet, talajnedvesség, PAR) paraméterek változásának rögzítése folyamatos volt, míg a vizsgált állományfoltok cönológiai (fajszám, főtípus, százalékos borítás becslése) viszonyainak, diverzitásának, levélfelület változásának, továbbá a domináns fajok fenofázisának, produkció-ökológiájának meghatározása heti rendszerességgel történt. Kétféle hordozható IRGA-val állomány- és levélszintű, valamint talaj CO₂-fluxust a teljes ciklus során rendszeresen mértük. A kiválasztott fajok hetente begyűjtött leveleiből meg lett határozva a főbb fotoszintetikus pigmentek (kl-a, kl-b, xantofill, karotinoidok), valamint az összes szén és nitrogén tartalom időbeli változása.

A szemléletében és metodikájában nemzetközi és hazai szinten egyaránt újszerű vizsgálatok során meghatározhatóvá és összehasonlíthatóvá vált több erdei aljnövényzet típus CO₂-fluxusának időbeli dinamikája, a mikrometeorológiai tényezők és ökológiai változók függvényében. Bebizonyítottuk, hogy a tavaszi erdei geofitonok kismértékű biomasszájuk ellenére jelentős CO₂-fixáló képességgel rendelkeznek és jelentős szénmegkötők mind lokálisan, mind globálisan. Több tudományterületet átfogó, integrált megközelítésünknek köszönhetően a biomassza allokációk vizsgálata során olyan folyamatokat ismertünk fel, melyek nélkülözhetetlen az erdei geofitonok sikerességének és túlélési stratégiájának megértésében. A biomassza és fluxus adatokat felhasználva megbecsültük az erdei geofiton növényzet szerepét a magyarországi szénmérlegben. Kutatásunk az állományszintű működés, stabilitás és szabályozás szerepének újabb bizonyítékait is szolgáltatotta. Vizsgálati eredményeink felhasználhatók továbbá a hasonlóan gyors dinamikájú növényállományok (pl. gyom- és vízi társulások) modellezéséhez is. Eredményeink nemcsak alapkutatás jellegűek, hanem a környezet- és természetvédelem szempontjából is fontosak, és az e területeken dolgozó döntéshozók számára is felhasználhatók.

**Mikorrhiza diverzitás és elterjedés kapcsolata a vitézkosbor (*Orchis militaris* L.)
példáján**

Ouanphanivanh Noémi

V. biológus

ELTE TTK Növényélettani és Molekuláris Növénybiológiai Tanszék

témavezetők: Illyés Zoltán PhD hallgató

Dr. Tóth Zoltán egyetemi adjunktus

Hazánk orchideái közül a vitézkosbor (*Orchis militaris* L.) az egyik legszélesebb élőhelyspektrummal rendelkező faj, mely változatos természetes és természetközeli élőhelyeken kívül (láprétektől bokorerdőig) másodlagos termőhelyeken, így homokbányákban és felhagyott szőlőkben is tömeges lehet. Más orchideákhoz hasonlóan a vitézkosbor is csak gombákkal szimbiózisban képes kifejlődni. Vizsgálataink során arra próbáltunk fényt deríteni, hogy van-e összefüggés az *Orchis militaris* elterjedtsége és szimbióta gombáinak diverzitása között. Emellett azt is vizsgáltuk, hogy vannak-e különbségek a különböző vizsgált élőhelyek szimbióta gomba közösségeinek összetételében, illetve hogy az *Orchis militaris* különböző egyedfejlődési stádiumaiban változnak-e az őt mikorrhizáló gombák.

A kérdések eldöntéséhez természetközeli és másodlagos élőhelyekről próbáltunk szimbióta gombákat izolálni orchideagyökerekből és *in situ* csíráztatott csíranövényekből (protokorm), majd a felszaporított gombatörzsekből DNS-t vontunk ki, és az nrITS-régió szekvenciája alapján azonosítottuk őket; DNS-alapú azonosítást közvetlenül mikorrhizált orchideagyökér DNS-kivonatból és protokormokból kiindulva is végeztünk. A kimutatott 21 szimbióta szekvencia igen diverznek bizonyult, az orchidea szimbióta gombák több nemzetségének képviselőit is sikerült kimutatnunk: *Epulorhiza* I. csoport (*Tulasnella*), *Epulorhiza* II. csoport, *Rhizoctonia* (*Ceratobasidium*), ami azt támasztja alá, hogy a vitézkosbor azért tud olyan változatos élőhelyeken tömegesen előfordulni, mert többféle szimbióta gombával képes kapcsolatba lépni. A legnagyobb szimbióta gomba diverzitást lápréteken tapasztaltuk, míg a száraz vagy bolygatott élőhelyeken az *Epulorhiza* II. szimbióta csoport gombái domináltak. Ez a szimbióta csoport természetközeli, üde élőhelyeken is jelen van, de ott feltételezéseink szerint háttérbe szorul a többi szimbióta gombával szemben. Az *Orchis militaris* csíranövényeit vizsgálva csak *Epulorhiza* II. szimbióta gombákat tudtunk kimutatni, szemben a kifejlett egyedek széles szimbióta spektrumával; mindez megerősíti azt az irodalomból is ismert tényt, hogy az orchidea-típusú mikorrhiza a kezdeti, obligát szakaszban specifikusabb.

NÖVÖKOL1-7

A fotoszintetikus aktivitás és a fényvédő folyamatok összefüggései cseres-tölgyes erdő lombkoronaszintjében

Szőllősi Erzsébet

V. környezettudomány

DE TTK Növénytan Tanszék

témavezetők: Dr. Mészáros Ilona egyetemi docens

Dr. Veres Szilvia egyetemi adjunktus

A hazai középhegységek legelterjedtebb zonális erdőtársulásai, a cseres-tölgyesek, amelyek idősebb korukban jól záródó, rétegzett erdők. A lombkoronaszint tagoltságának, a levélanatómiai sajátosságoknak és az ezzel szoros összefüggésben megnyilvánuló fényhasznosítási kapacitásnak az egész erdőállomány szerves anyag produkciója és működése szempontjából meghatározó szerepe van. Zárt erdőállományokban a fák lombkoronájának felső és külső részét érő fényintenzitás sokszorosán felülmúlhatja a lombsátor mélyebb rétegeibe bejutót. Emiatt a fénylevelekre jellemző, hogy a kloroplasztiszok antenna pigment-protein komplexekben több fénykvantum nyelődik el, mint amennyi a fotoszintetikus folyamatokban hasznosulna, és kisebb/nagyobb fényfelesleg mellett fotoszintetizálnak.

A dolgozatban bemutatott vizsgálatok a Síkfőkút Projekt erdőökológiai program kutatásaihoz kapcsolódnak. Célom volt a kutatási terület cseres-tölgyes erdőállományában a domináns fafajoknál (*Quercus petraea* és *Quercus cerris*) a lombkorona fény és árnyék szintjeiben a fotoszintézis aktivitás és a fotoszintetikus pigment-összetétel szezonális fluktuációjának és vertikális variabilitásának a feltárása, valamint a karotinoidok fényvédő szerepének a tanulmányozása. A vizsgálatainkat két eltérő időjárású vegetációs periódusban, a száraz 2003 évben és a csapadékos 2004 évben végeztük.

A potenciális fotokémiai aktivitás jellemzésére a Fv/Fm klorofill-fluoreszcencia paramétert használtuk. Kimutattuk, hogy az Fv/Fm értéke a fák fényszintjében alacsonyabb, mint az árnyékszintben, ami eltérő fényátlás erősséget mutat. A kocsánytalan tölgy esetében az Fv/Fm szintek közötti eltérése nagyobb volt, mint a csertölgynél. A Fv/Fm tavasszal viszonylag alacsony volt, ami a fotoszintetikus apparátus sérülékenységét és abiotikus stressztényezőkkel szembeni érzékenységet jelzi ebben az időszakban. Ez különösen a szárazabb évben volt szembeutó. A kocsánytalan tölgy esetében mindkét lombkoronaszintben a száraz 2003 évi növekedési szezonban magasabb volt a szárazanyagra vonatkoztatott klorofill-tartalom, mint a csapadékos 2004 évi időszakban. Mindkét fajnál kimutatható volt a VAZ ciklus mellett a lutein-epoxid ciklus is, bár kisebb a jelentősége. A csertölgy esetében nagyobb a VAZ ciklus pigment készlete és aktivitása a kocsánytalan tölgyhöz képest hatékonyabb fényvédelmet jelez. Az eredmények arra utalnak, hogy kocsánytalan tölgy fotoszintetikus apparátusa nagyobb klimatikus érzékenységet mutat, mint a csertölgyé.

Az energiafű (*Agropyron elongatum* cv. „Szarvasi-I”) fitoremediációs alkalmasságának vizsgálata különböző komplexképzőkkel indukált ólomakkumulációja alapján

Vashegyi Ildikó

V. biológus

ELTE TTK Növényélettani és Molekuláris Növénybiológiai Tanszék

témavezető: Dr. Fodor Ferenc egyetemi docens

Munkánk során azt vizsgáltuk, hogy a fitoremediációs célokra potenciálisan alkalmas energiafű ólomfelvétele, s ólomakkumulációjának mértéke növelhető-e természetes (citromsav), illetve mesterséges (K_2EDTA) komplexképzőkkel, valamint hogy a kezelések hogyan befolyásolják a növények fiziológiai tulajdonságait. A méréseket magról csíráztatott növényekkel végeztük, melyeket csírázást követően különböző $Pb(NO_3)_2$ -koncentrációjú (0, 10 és 100 μM), módosított Hoagland-tápoldatra ültettünk. A kelátorokat 21 napos nevelés után, háromféle koncentrációban (0, 100 és 500 μM) adtuk a tápoldatokhoz, hatásukat 8 napos kezelést követően mértük le. Mindkét komplexképző esetén nyolcféle tápoldatot használtunk, önmagában 100 μM ólommal történő kezelést az ólom tápoldatból történő kicsapódása miatt nem végeztünk. Vizsgáltuk a növényi részek friss- és száraztömegét, a levelek klorofill-tartalmát, a CO_2 -fixáció mértékét, a klorofill-a fluoreszcencia indukció karakterisztikáját, a tápoldat pH-változását, a transpiráció mértékét, a levelek malon-dialdehid (MDA) tartalmát, s a szárított mintákon elemanalízist végeztünk. A kezelésekkal szemben a növények nagymértékben ellenállónak bizonyultak, ami a növekedés csekély mértékű gátlásában, a fotoszintetikus elektrontranszport-lánc rezisztenciájában, s a lipidperoxidáció mértékét mutató MDA mennyiségének stagnálásában is megnyilvánul. Alapvető különbségeket tudtunk viszont kimutatni a kétféle komplexképző hatásai között. Citromsav alkalmazása csupán kis mértékben módosítja a mért élettani változókat a kontrollhoz képest, hatása valószínűleg az ólom-koncentráció emelésével citromsav jelenlétében erősen megnövekedő ólomakkumuláció miatt jelentkezik. K_2EDTA esetében a komplexképző jelenléte, koncentrációja határozza meg elsősorban a hatás nagyságát, ami azzal magyarázható, hogy a változásokat az EDTA membránkárosító volta okozza. Komplexképzők jelenléte növeli a hajtásba történő ólomfelvételt, citromsav esetén jóval nagyobb mértékben, így – fiziológiai hatásait is figyelembe véve – fitoremediációs felhasználásra ez a kelátor alkalmasabb. Méréseink alapján az energiafű tehát alkalmazható fitoremediációs, indukált fitoextrakciós célokra.

NÖVÉNYÖKOLÓGIA 2. TAGOZAT

A csömöri láprét botanikai összehasonlító elemzése

Bokor Veronika és Tóth Balázs

IV. környezetgazdálkodási agrármérnök; IV. agrármérnök

SZIE MKK Tájökológia Tanszék

témavezetők: Dr. Penksza Károly egyetemi docens

Dr. Szerdahelyi Tibor egyetemi adjunktus

A valódi lápok a legvízeibb részekről távolodva csaknem mindig láprétekben folytatódnak. A lápréti társulások fajgazdagságuk és sok ritka viráguk miatt az országban mindenhol különleges természeti értéket képviselnek. A száraz időjárás, a természetes feltöltődés ill. a lecsapolások hatására ezeket a területeket a kiszáradás veszélye fenyegeti. Ezért a lápréti társulások felmérése és védelme kiemelten fontos feladat.

A csömöri láprét (Réti-dűlő) az 1977-ben megyei védettséget kapott Csömöri legelő természetvédelmi terület nagyobbik része. A Réti-dűlő eddig elkerülte a botanikusok figyelmét, a területen csak egyszer történt részletes florisztikai felmérés, mely alapot szolgáltatott a további vizsgálatokhoz.

A TDK dolgozat részletesen ismerteti a Réti-dűlő első, valamint az általunk végzett fajfeltérképezések eredményeit. Az első vizsgálatokat Stollmayerné Boncz Emília végezte az 1990-91-es években. Az általunk végzett botanikai vizsgálatokra 2005-2006-ban került sor.

A dolgozat fő témája, hogy ezen adatok segítségével bemutassa 15 év elteltével a lápréten bekövetkező változásokat. Az üde láprétekre jellemző fajok, köztük számos védett faj, mint például a mocsári nőszőfű (*Epipactis palustris*), a mocsári nőszirm (*Iris pseudacorus*), a mocsári kosbor (*Orchis laxiflora* subsp. *palustris*) és a ritka fehérmájvirág (*Parnassia palustris*) egyedszáma lecsökkent, illetve ezek közül 2 faj el is tűnt. A felmérések alkalmával azonban sikerült olyan új, védett fajokat [pl.: vitézkosbor (*Orchis militaris*), gyíkphár (*Blackstonia acuminata*)] felfedeznünk, amelyek ritkaságuk révén tovább növelik a terület értékét.

Az eredmények összehasonlításával kimutatható, hogy az üde láprét fokozatosan kékperjés kiszáradó láprétté alakul. A befejező rész ennek az okaira próbál magyarázatot adni, valamint arra is rámutat, hogy a megfelelő területkezelés elősegítheti a természeti értékek megőrzését.

NÖVÖKOL2-2

A síkfőkúti cseres-tölgyes erdő lágyszárú szintjének dinamikája és magkészlet vizsgálata

Koncz Gábor

V. biológus-V. biológia-környezettan

DE TTK Növénytan Tanszék

témavezetők: Dr. Papp Mária egyetemi docens

Dr. Matus Gábor egyetemi adjunktus

A Bükk hegység déli lábánál fekvő Síkfőkút Project cseres-tölgyes erdejében 1972 óta folynak ökológiai kutatások. A hetvenes évek végén kezdődött, közel egy évtizedig tartó tölgypusztulás átalakította az erdőt. Egy heterogénebb kor- és fafaj struktúrájú erdőszerkezet van kialakulóban, miközben a lágyszárú növényzet jelentősen visszaszorult.

Dolgozatomban a lágyszárú szint hosszú távú változásait, annak a jelenlegi lágyszárú magkészlettel való viszonyát mutatom be. Vizsgálataimat a struktúra-felmérésekre tartósan kijelölt "A" negyedhektár 4×4 m-es négyzeteiben végeztem, a faj- és egyedszám változásokat követtem. A magkészlet vizsgálatához 50 db 4×4 m-es négyzetből összesen 37700 cm³ talajmintát vettünk 2005-ben és 2006-ban. Külön kezeltük a furatok felső és alsó 5 cm-ét. A meghatározáshoz magkoncentráció utáni csíráztatásos módszert használtunk.

1973-ban közel 400 ezer lágyszárút regisztráltak, napjainkban ez a szám alig haladja meg a 12 ezret. A hetvenes években a faji összetétel jobb volt, napjainkban több a gyomfaj. Az egyedszám erőteljes csökkenését a fajszám kisebb mértékű változása kísérte. A *Poa nemoralis* dominanciáját 1988-tól felváltotta a *Melica uniflora*. A fajstruktúrában az átrendeződés az egyedszám visszaesése után késleltetve történt meg.

Talajmintáink magkészlete 42 faj 491 egyede. Az életképes magvak száma 1300 db/m², ami az irodalmi adatokkal összevetve erdőkre közepes sűrűségű magkészlet. A felső talajszintből 276 db, az alsó szintből 215 mag csírázott, többségük kisebb méretű mag. A magkészletben a ruderalis fajok mind faj-, mind egyedszámban jelentősebbek. Az életformamegoszlását tekintve több hemikryptophyton faj van, viszont a therophytonok egyedszáma nagyobb. Korábbi területhasználat nyomai tükröződnek a mélyebb talajréteg nagyszámú gyommagjában. A növényzet és a magkészlet közötti faji hasonlóság alacsony. A mélység szerinti megoszlás alapján megadjuk a fajok magkészlet típusait, összevetve az irodalmi adatokkal. 3 fajra újonnan közlünk magélettartam becslést.

Összefoglalva, a cseres-tölgyes erdő lágyszárú növényzete 33 év alatt a tölgypusztulást követően egyedszámban és tölgyerdei fajokban hirtelen szegényedett el. A változások elsősorban az erdő sűrűsödésével, szárazodásával és melegeedésével kapcsolatosak. Mivel a magkészlet a tölgyerdei fajokat tekintve kimerülőben van, regenerálódása kívül eső magforrásokból, valamint a vegetatív szaporodási stratégia erősödésével várható az erdei klíma pozitív változása esetén.

A kiskunsági évelő nyílt homokpusztagyepek változatossága

Kucs Piroska

V. biológus

ELTE TTK Növényrendszertani és Ökológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Kröel-Dulay György tudományos főmunkatárs

Dr. Rédei Tamás tudományos főmunkatárs

konzulens: Dr. Kalapos Tibor egyetemi docens

A Pannon erdőssztyepp vegetáció legnagyobb kiterjedésben fennmaradt fátlan élőhelytípusa az endemikus fajokban gazdag évelő nyílt homokpusztagyep. Munkám célja a homoki vegetáció variabilitásának és a legfontosabb mérhető háttérváltozókkal (talajjellemzők, erdősültség) való összefüggésének vizsgálata volt a Duna-Tisza közén.

17 természetközeli állapotú homokbuckásban, hat-hat 1 hektáros és 4×4 m mintaterületen rögzítettem a homoki fajok előfordulását és a hektárokon belül becsültem a különböző vegetációtípusok borítását. Minden mintaterület közepén 100 m²-es kvadrátban becsültem a domináns fajok borítását, valamint fizikai és kémiai elemzésre talajmintát gyűjtöttem. Egy módszertani elővizsgálat keretében kimutattam, hogy az 1 hektáros mintavételi egységek jobban becslik a homoki fajkészletet, mint a 4×4 m-es felvételek, így a továbbiakban ezeket használtam a homokbuckások fajkészletének jellemzéséhez. A fajösszetétel variabilitását és a különböző háttérváltozók szerepét kanonikus korrespondencia-elemzéssel vizsgáltam. A fajgazdagság és a domináns fajok borításának kapcsolatát a vegetációs és környezeti háttérváltozókkal általános lineáris modellekkel teszteltem.

A 46 homoki fajból 32 előfordult a 17 területből legalább 14-en. A fajösszetétel szempontjából az erdősültség mértéke bizonyult a legfontosabb háttérváltozónak, de a talaj humusz- és CaCO₃ tartalmának is szignifikáns hatása volt. A rövidéletű fajok száma pozitív kapcsolatban volt a gyepek mennyiségével és negatív kapcsolatban az erdősültség mértékével. A kiterjedt erdők jelenléte strukturálta a fajkészletet; az erdősültség növekedésével kevesebb homoki faj fordult elő egy-egy felvételben, de táji szinten az erdős buckásokban is hasonló volt a homoki fajok száma. A domináns évelő fűvek közül a *Festuca vaginata* negatív kapcsolatban volt a pH-val (a kevésbé bázikus helyeken fordult elő) és pozitív kapcsolatban az erdősültséggel, míg a *Stipa borysthenica* negatív kapcsolatban volt a CaCO₃-tal és nem mutatott kapcsolatot az erdősültséggel.

Eredményeim azt mutatják, hogy a Duna-Tisza közti homokbuckások növényzete egy nagy mértékben közös fajkészlettel rendelkező karakteres élőhelytípus, és a fennálló különbségeket jelentős részben az eltérő erdősültség magyarázza, míg a talajtani eltérések hatása kisebb.

NÖVÖKOL2-4

Dolomitsziklagepek vizsgálata, különös tekintettel a taposás és a feketefenyő hatására

Laborczi Annamária

környezetgazdálkodási agrármérnök (2006)

SZIE MKK Tájökológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Penksza Károly egyetemi docens

Dr. Kézdy Pál osztályvezető

A dolomit területek vegetációja hazánkban az egyik leggazdagabb, a hazai flóra nagyszámú ritka, endemikus fajait is őrzi. A XIX. századtól kezdve a kopár dolomit felszínnek feketefenyővel (*Pinus nigra*) történő mesterséges beerdősítése folyt, amelyet eleinte nagy sikerként értékelték, s csak később kezdtek foglalkozni a beavatkozásból adódó természetvédelmi problémákkal.

Cönológiai vizsgálataink a Budai-hegység két helyszínén (Nagy-Szénás, Huszonnégyökrös-hegy), történtek feketefenyves állományokban, leégett volt fenyvesekben, gyalogösvények mentén. Kontroll területként nem bolygatott, természetközeli gyepek felvételei is megtörténtek, valamint összehasonlításra felhasználtunk korábban készült balaton-felvidéki cönológiai felvételeket is.

Az adatok értékelése egyrészt az élőhelyekre vonatkozóan a természetességi állapot figyelembevételével, másrészt pedig az előforduló fajok relatív ökológiai mutatói, valamint multivariációs elemzések alapján történt. A degradáció fokának megállapításához egy magunk által alkotott képletet is felhasználtunk.

A gyalogösvények mentén, erősen átalakított, antropogén vegetációfoltok jelentek meg. Az út melletti mintavételi terület a taposott úttal ellentétben természeteshez közeli. A feketefenyő alatt csak nagyon kevés faj tudott fennmaradni, melyek elsősorban zavarástűrő növények közül kerülnek ki.

A leégett területek azon részein – ahol vastagabb talajtakaró található – az elmúlt időszakban a természetes vegetáció még nem állt vissza, hanem gyomokkal erősen „szennyezett” térszínek találhatók. Különösen igaz ez a Huszonnégyökrös-hegyre, amely a visszatelepülés szempontjából nincs olyan kedvező helyen, és csaknem tíz évvel később égett le, mint a Nagy-Szénás. A nyílt sziklafelszíneken az eredetihez közeli vegetációfoltok szinte ez idő alatt visszarendeződtek. Így ezeken a területeken ma természetközeli nyílt dolomitsziklagepeket találunk.

A vizsgálatok során a társulást alkotó domináns *Festuca* példányokat is ellenőriztük. A társulásalkotóként megjelölt *Festuca pallens* – genetikailag és morfológiai alapon is jól megkülönböztető módon – két taxonra különül el: a diploid, alhavi *Festuca pallens*-re és a tetraploid, szubmediterrán területeken élő *Festuca pannonica*-ra. Kiderült, hogy a *Festuca pannonica* fajnak tekintett taxon a déli lejtőkön képez társulásokat. A diploid, vékonyabb levelű *Festuca pallens* csak az északi lejtőn található meg. Ez a társulás cönoszisztematikai besorolását is érintheti.

Hogyan befolyásolják a numerikus osztályozás eredményét az akcicens fajok?

Lengyel Attila

II. biológus

PTE TTK Növényrendszertani és Geobotanikai Tanszék

témavezető: Dr. Csiky János egyetemi adjunktus

konzulens: Dr. Botta-Dukát Zoltán tudományos főmunkatárs

A 20. század utolsó évtizedeiben születő klasszikus cönológiai munkák leggyakrabban nagy adathalmazok statisztikai elemzésével adnak rálátást egy-egy társuláscsoport változatosságára. Új felvételek készítése mellett nagymértékben támaszkodnak irodalmi adatokra. A cikkekben közölt tabellákból azonban gyakran hiányoznak az I-es konstanciájú fajok, vagy felsorolásuk esetén nem derül ki egyértelműen, hogy melyik felvételhez tartoznak. Emiatt ezeknek a tabelláknak a felhasználhatósága megkérdőjelezhető. Dolgozatomban az akcicens elemek jelentőségét tesztelem azonos adatsorból származó, de különböző átalakításokon átesett tabellák osztályozásának összehasonlításával. Hipotézisem, hogy a teljes és az I-es konstanciájú fajokat nem tartalmazó tabellákból készült adatsorok numerikus osztályozása nem különbözik szignifikánsan.

A vizsgálatnak alávetett tabellákon és azok akcicensektől megszabadított változatain végrehajtottam egy több lépésből álló osztályozó műveletet, majd az eredmények statisztikai tesztjével döntést hoztam a különbség szignifikanciájáról. Először egy 102, *Arrhenatheretalia* és *Violion caninae* csoportokba sorolható, publikálatlan és irodalmi felvételeket tartalmazó adathalmazt elemeztem. A klasszifikáció első lépésében cluster-analízist végeztem. A kapott dendrogramokat Botta-Dukát *et al.* (2002) módszere szerint számított optimális szinten elvágva nem-hierarchikus partíciókat készítettem, melyeket a Goodmann-Kruskal-f. lambda prediktabilitási indexszel hasonlítottam össze, s az eredmény szignifikánsnak bizonyult. A hipotézis elfogadása mellett azonban megalapozatlannak tartottam a konklúzió általánosítását, ugyanis az eredmény erősen függ az adatstruktúrától, így pl. a földrajzi és szüntaxonómiai lefedettségétől és a mintavételi körülményektől, ezért a további vizsgálatok tárgyának egy 825 felvételből álló adatsort állítottam össze, amely négy különböző szerkezetű vegetációtípus (nyílt gyepek, zárt gyepek, nyílt erdők, zárt erdők) irodalmi, publikálatlan és a CönoDat Referencia Adatbázisban tárolt felvételeit tartalmazta. Utóbbi vizsgálatok, a nagyobb földrajzi és szüntaxonómiai reprezentativitásnak köszönhetően, vélhetően megbízhatóbb eredménnyel szolgálnak a kérdés általánosabb érvényű megválaszolásához.

NÖVÖKOL2-6

A vegetáció monitorozásának megalapozása a Kivágási-legelő élőhelyrekonstrukció területén

Majláth Imre

V. biológus

SZTE TTK Ökológia Tanszék

témavezető: Dr. Margóczy Katalin egyetemi docens

konzulens: Sallainé Kapocsi Judit botanikai felügyelő

Magyarországon a vizes élőhelyek jelentős része megsemmisült a gazdasági célú hidrológiai átalakítások következtében. Napjainkban a természetvédelem fontos feladata a vizes élőhelyek rekonstrukciója. Vizsgálataimat a Körös Maros Nemzeti Park Kivágási-legelő nevű területén végeztem. A 2004-ben indított vízügyi rendezés célja a teljes kiszáradás megakadályozása és az egykori vizes élőhely helyreállítása, amelynek érdekében vízvisszatartást és vízpótlást alkalmaztak. Átalakították a területet keresztültszelő csatornát, amely most a terület természetes érhálózatával teremt vízi kapcsolatot. A hidrológiai létesítmény 2004-ben részlegesen, 2005-ben pedig teljesen működőképes.

A beavatkozás előtt sajnos nem történt meg a vegetáció felmérése, ezért vizsgálataim során a vegetáció árasztás utáni korai állapotát dokumentáltam. Célom referencia szolgáltatása a későbbi vizsgálatokhoz. Különböző történeti források felhasználásával elvégeztem az egykori és a mai vegetáció összehasonlító vizsgálatát. A növényzet 2006. évi állapotát 1:10 000 léptékű vegetációtérképen tüntettem fel. A kisléptékű felvételezést a vizes területek széli zonációjában 10 db, 50-100 m hosszúságú, 5x5 m-es kvadrátokból álló állandó transzektekben, a szárazabb részekben 34 db 5 x 5 méteres kvadrátban végeztem el. A kvadrátokban a növényfajok százalékos borításértékét állapítottam meg.

Jelenleg a terület mélyebb fekvésű részein a Nemzeti Élőhelyosztályozási Rendszer következő kategóriái találhatók meg: *ecsetpázsitos sziki rét* (F2)-, a *vízparti virágkákás, csetkákás, vízi hídörös, metyekörös mocsarak* (B3)- és a *nem tőzegképző gyékényesek és tavikákások* (B1a). A magasabb fekvésű, hátsabb részekben főleg az *ürmőspuszták* (F1a) valamint *degradált löszgyepfoltok* (H5a) az uralkodók. GPS-sel rögzítettem három fafaj (*Salix cinerea*, *S. triandra*, *Acer negundo*) a területen előforduló fiatal példányainak előfordulási helyét.

Vizsgálataim szerint jelentős a terület *Cirsium brachycephalum*, a *Salvinia natans*, *Utricularia vulgaris* állománya, de előkerült a *Phlomis tuberosa* néhány töve is.

Reményeim szerint eredményeim alkalmasak lesznek arra, hogy a későbbiek során, az állandó mintavételi helyek újra felvételezésével az élőhelyrekonstrukció hatását értékelni lehessen.

A Nyugat-Gerecse mohafldrája

Szűcs Péter

környezetmérnök (2006)

NyME EMK Növénytan Tanszék

konzulens: Dr. Király Gergely egyetemi docens

A Nyugat-Gerecse nagy része mohafldorisztikai szempontból nem számít a kutatott területek közé, csupán a táj egyes részei mondhatóak viszonylag feltártnak.

BOROS Ádám terepi gyűjtései során csak a főbb élőhelyeken fordult meg, és ezek a gyűjtések is főleg az 1920-as és 1940-es évekből származnak. Friss adatokat csupán PÓCS Tamás (1999) szolgáltatott a területről.

Az aktuális kutatás eredményeként elmondható, hogy összesen 148 mohafaj előfordulása ismert a területről, melyből 87 taxon újnak számít a Nyugat-Gerecsére nézve.

A közönségesebb és gyakoribb fajok mellett számos – országos viszonylatban – ritkának számító moha került elő. Ide tartozik a *Dicranum tauricum*, melynek a Dunántúlról eddig ismert 4 lelőhelye további 5 előfordulási ponttal egészült ki.

Dunaalmás térségből kerültek elő az *Eurhynchium praelongum* és az *Amblystegium humile* nevű fajok, melyek szintén ritkának számítanak.

Peter ERZBERGER-rel közösen 2004 tavaszán végeztünk mohafldorisztikai kutatásokat a neszmélyi löszfalaknál, melynek eredményeként a területről továbbra is sikerült kimutatni az Európai Vörös Könyves *Hilpertia velenovskyi*-t, valamint a *Funaria pulchella* és a *Pterygoneurum compactum* újabb hazai lelőhelyeit találtuk meg.

Munkám során foglalkoztam a neszmélyi vízmosáskötő gátakkal – mint speciális mohaélőhelyekkel – és vízügyi szerepükön túl sikerült rámutatnom természetvédelmi jelentőségükre is. A létesítmények felületéről kimutatható az *Anomodon viticulosus*, a *Didymodon tophaceus*, a *Homalia trichomanoides*, a *Plagiomnium rostratum*, és a *Platyhypnidium riparioides*. Ezek a fajok – kutatási területre vonatkozó – egyedüli előfordulási pontjai a vízmosáskötő gátakhoz köthetőek.

2006 év második felében végzett felmérés során sikerült rögzíteni a fajok főbb előfordulási pontjainak EOY koordinátáit is. Az adatokból egy – térinformatikai rendszerrel kompatibilis – adattábla készült, mely a természetvédelem számára közvetlenül használható.

Az utólagos terepbejárás során bukkantam rá a *Campylobus introflexus*-ra, melyet eddig hazánk területéről nem mutattak ki. A gyorsan terjedő, Nyugat-Európában mára közönségessé vált mohát erősen korhadt *Pinus*-fakorhadékról, a dunaalmási „Ebgondolta-páfrányosból” gyűjtöttem.

A dolgozat hiánypótló a térség mohafldorájára nézve, és rámutat arra, hogy Magyarország egyes részei bryológiaiailag ugyan jól feltártak, mégis szükség lenne a periférikus ill. kevésbé kutatott tájegységek újbóli mohafldorisztikai kutatására.

NÖVÖKOL2-8

A balatoni nádasok pusztulásának légifelvételes vizsgálata

Zlinszky András

V. biológus

ELTE TTK Növényrendszertan és Ökológia Tanszék

témavezető: Dr. Herodek Sándor tudományos tanácsadó

A Balaton természetes állapotú parti területeinek jelentős része nádas, ezért a nádasok kiemelkedő szerepet játszanak a Tó élővilágának megőrzésében. A nádasok pusztulása az 1970-es években kezdődött, és hasonló módon zajlott Európa több nagy taván. A nádasok területét vízfelületek, csatornák, lagunák szabdalják fel, majd a nádas szigetekre bomlott, végül ezen szigetek területe lecsökkent, egy méter körüli ún. babák maradtak csak meg. A pusztulás okáról számos elgondolás született, az egyik feltételezés szerint a mesterségesen szabályzott vízállás hat károsan a nádra. A balaton vízállása 1863 óta mesterségesen szabályzott, azóta a vízszintingadozást 3 méterről 30 cm-re csökkentették fokozatosan, az engedélyezett alsó vízállást pedig 40 cm-el megemelték. A 2000-ben kezdődött aszály alatt újra lecsökkent a tó vízszintje, ez tette lehetővé a hipotézis vizsgálatát. Az 1951, 1955, 1963 és 1982 évekből szereztünk légifotókat, melyeket kameramodell segítségével ortorektifikáltunk, a 2000 és 2003-ban készült képeket pedig ortofotók formájában kaptuk meg. 73 mintavételi egységet, a part 200 m hosszú szakaszait jelöltük ki, és ezekben térképeztük fel a nádas területét. 1951 és 1982 között, amíg a vízszintingadozás 1 m körül alakult, a nádasfront több lépésben átlagosan 36 métert haladt befelé. 1982 és 2000 között, a szűk határok között tartott vízszintingadozású időszakban átlagosan 20 métert haladt a nádasfront a part felé, tehát a mintavételi egységeinkben a nádas területe erősen lecsökkent, a nád pusztult. 2000 és 2003 között átlagosan 6 métert haladt ismét befelé a nádasfront, tehát az alacsony vízállás kedvezett a nádasok felújulásának. Ennek ismeretében tehát szükséges lenne a nádasok érdekében időnként alacsony vízszintet beállítani a Balatonban.

SEJTBOLÓGIA TAGOZAT

SEJTBiol-1

Nyúlpetesejtek *in vitro* érlelése

Angeli Vivien

alkalmazott zoológus (2006)

SZIE ÁOTK

témavezető: Dr. Dinnyés András egyetemi tanár

Az emlősök petesejtjei már az embriogenezis kezdeti szakaszában fejlődésnek indulnak. Azt a folyamatot, amikor az embrió gonádjába vándorló, majd az ott megtelepedő ősvarsejtekből a postnatalis élet során, az ivaréssel kezdődően szekunder petesejtek jönnek létre, petesejtérésnek (maturációnak) nevezzük. Szűkebb értelemben az oogenezis azon szakaszát tekintjük maturációnak, amelynek során a tüszőben fejlődő éretlen oocytából érett, termékenyülésre alkalmas szekunder oocyta jön létre. Ez a folyamat az ovuláció körüli időben megy végbe. A petesejtek *in vitro* körülmények között is képesek maturálódni.

A vizsgálataink célja az volt, hogy Lorenzo kísérleteinek metodikája alapján (Lorenzo és mtsai. 1996), annak egyes részfolyamatait megváltoztatva, egy hatékonyabb *in vitro* nyúlpetesejt érlelést dolgozzunk ki. Lorenzo eredeti kísérletében a nyúlováriumokból kinyert oocytákat, különböző (a maturáció lefolyását segítő) kiegészítő anyagokat tartalmazó 3 mg/ml BSA koncentrációjú *in vitro* maturációs (IVM) oldatokba helyezte. A petesejtérlelést (inkubátorban) 37°C-on 5%-os CO₂ tartalom mellett 16 órán keresztül végezte. A vizsgálataink során mi ugyanezt a metodikát követve a kísérletnek 4 paraméterét változtattuk meg, amelyek a következők: a nyúlpetefészkek szállítási (a vágóhídtól a laboratóriumig) hőmérséklete, a maturációs medium kiegészítése, az inkubáció hőmérséklete, a maturációs medium hormontartalma. A szállítási hőmérséklet (32°C és 37°C) adataiból kitűnik, hogy a 32°C-on szállított petesejtek érlelési eredményei szignifikánsan jobbak (42,51%) a 37°C-on szállítottakénál (18,81%). A petesejtek inkubációját 2 különböző hőmérsékleten végeztük 37°C-on és 38,5°C-on. Az eredmények a következőképpen alakultak: 37°C: 26,86%, 38,5°C: 34,95%. Az IVM médiumban 3 különböző kiegészítést: 0,1% PVA (Poly Vinil Alkohol), 0,3 mg/ml BSA (Bovine Serum Albumin), 10% ill. 20% FCS (Fetal Calf Serum), a maturációban kifejtett hatékonyságuk szempontjából teszteltünk. Az eredményekből látszik, hogy a 20% FCS-sel kiegészített IVM médium bizonyult a leghatékonyabbnak (PVA: 30,4%, BSA: 21,9%, 10% FCS: 20%, 20% FCS: 40,8%). Az IVM médiumba a petesejtek egy csoportjánál IGF-I, ill. EGF növekedési faktorokat és hCG és eCG hormonokat tettünk, míg a másiknál nem. Az eredmények között (hormonnal kiegészített: 31,73% szemben a 31,45%-kal) nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget. Az eredmények alapján az eljárást a gyakorlatban is lehet alkalmazni különféle biotechnológiai vizsgálatokra.

A nitrogén-monoxid szintetáz expressziójának vizsgálata szinkron és heterogén sejtenyészetekben

Bátori Róbert Károly

V. biológus

DE OEC Orvosi Vegytani Intézet

témavezetők: Dr. Erdődi Ferenc egyetemi tanár

Dr. Serfőző Zoltán tudományos munkatárs

A nitrogén-monoxid szintetáz (NOS) izoenzimek számos sejttypusban előfordulnak és termékük, a NO szabályozó szerepe különböző sejt folyamatokban ma már sokoldalúan bizonyított. Kísérleteinkben az endotéliális (eNOS) és indukálható (iNOS) NOS izoformák expresszióját és mennyiségi változását követtük nyomon a sejt ciklus különböző állapotaiban nem szinkronizált és szinkronizált humán köldökzsinórból izolált véna endotél sejtek (HUVEC) tenyésztésében, kínai hőrség ovárium fibroblaszt (CHO), munttyák szarvas fibroblaszt (MSF) és humán keratinocita (HaCaT) sejt vonalakban.

Az eNOS HUVEC és CHO sejtekben a sejt ciklus minden fázisában jelen volt, míg az iNOS-t csak osztódó MSF és HaCaT sejtekben detektáltuk. Mindhárom sejt típusban a NOS immunfluoreszcencia (IF) intenzitás növekedését figyeltük meg mitózisban. HUVEC, CHO és MSF sejtekben a NOS homogén eloszlást mutatott a kromoszómák körül, míg HaCaT-ban a centromer és a magorsófonalak mentén észleltünk erős IF jelet. HUVEC-et kolcemiddel kezelve a sejteket metafázisban megállítottuk, majd a gátlás feloldásával 12 különböző szinkron állapotú tenyészetet hoztunk létre. A kolcemiddel metafázisban tartott sejtek lizátumából készült immunblotton az eNOS jelentős növekedését mutattuk ki heterogén (kontroll) tenyészethez képest. A gátlás feloldását követően 7-8 óránként gyűjtött mintákban a NOS mennyiségének ciklikus változását figyeltük meg. HUVEC-ben kimutattunk egy ~56 kDa és egy ~112 kDa molekulatömegű nitrozilált fehérjét, amelyek közül a nagyobb tömegű fehérje nitrozilálási szintje párhuzamosan változott az eNOS expressziójának növekedésével szinkron tenyészetben. A fehérje nitroziláció jelenségét IF módszerrel is igazoltuk.

Nitro-L-arginin-metil-észter (L-NAME), a NOS egyik szubsztrát-analóg inhibitora, 10^{-2} M koncentrációban befolyásolta HUVEC és CHO sejtek mikrotubulusainak szerkezetét és a sejtek alakját, valamint apoptózist indukált és megnövelte a profázisos sejtek számát osztódó CHO sejtenyészetben.

Eredményeink arra utalnak, hogy a NO-nak szerepe van a mitózis és a sejt mozgás szabályozásában, amely hatás közvetítésében fehérje nitrozilációs folyamatok is szerepet játszanak.

SEJTBiol-3

A matrilin-2 hatásának vizsgálata tumorindukcióra és áttétképződésre

Francziszi László

II. biológia kiegészítő, III. kémia kiegészítő

SZTE TTK Genetikai és Molekuláris Biológia Tanszék

témavezető: Dr. Kiss Ibolya tudományos tanácsadó

konzulens: Dr. Boros Imre egyetemi tanár

A matrilin fehérjecsald négy tagból áll. A nem kollagén típusú extracelluláris mátrix fehérjék egy csoportját alkotják. Immunfluoreszcenciás kísérletekkel igazolták, hogy a matrilin-2 sejt-kultúra tenyészetben képes saját molekulákkal alkotott, sejt-kívüli hálózat létrehozására. Emellett más, kollagén és nem kollagén természetű extracelluláris molekulákhoz is tud kötődni, tehát részt vesz több fehérjéből felépülő, heteromolekuláris fehérjehálózatok létrehozásában is. Legnagyobb mennyiségben a váz- és izomrendszer tömörtrostos és lazartost kötőszövetekben fordul elő, de jelentős mennyiségben figyelhető meg a légutak és a tápcsatorna epitélák bazális membránjában és endotélák bazális membránjában is.

Abból a célból, hogy megvizsgáljuk a matrilin-2 lehetséges szerepét a sejtosztódásban, sejt-vándorlásban és -differenciációban, korábban célzott mutagenézissel matrilin-2 hiányos egert hoztunk létre. Ezeket az egereket felhasználva két kísérletes állatmodellben megvizsgáltuk, hogyan befolyásolja a matrilin-2 léte illetve hiánya májtumor indukcióját, illetve tumor sejt-k áttét képződését.

Kísérletünk egyik csoportjában hepatokarcinogenezis indukálásához vad típusú és izogén matrilin-2 KO hím egereket dietil-nitrozaminnal (DEN, $(C_2H_5)_2NNO$) oltottuk intraperitoneálisan, 15 napos korukban. Az egerek máját 10 hónappal az oltás után vizsgáltuk. Minden KO egérben makroszkopikus daganatokat figyeltünk meg, szemben a vad típusú csoporttal, ahol ez az egerek 78%-ában jelentkezett. Mind az egy májra eső átlagos tumorszám, mind a májtömeg testtömeghez viszonyított százalékos aránya jóval magasabb volt a matrilin-2 hiányos törzsb-n, az eredmények statisztikailag szignifikánsak.

Kísérletünk másik csoportjában matrilin-2 KO és vad típusú nőstény egereket injektáltunk intramuszkulárisan B16 melanoma sejtekkel. 5 hét után mértük a primer tumor átmérőjét és megszámláltuk a tüdőben az áttéteket. A tumorok átmérője és az áttétek száma is egyaránt alacsony volt, szignifikáns különbséget nem tapasztaltunk.

Kísérleteink alapján azt a következtetést vontuk le, hogy a matrilin-2 tumor szupresszív hatású, mert a fehérje hiányában nő a tumorok száma és nagysága, de a fehérje jelenléte az áttétképződést nem befolyásolja lényegesen.

Humán daganatsejtek motilitásának morfológiai vizsgálata

Futosi Krisztina

V. biológus

ELTE TTK

témavezetők: Dr. Tóvári József tudományos munkatárs

Dr. Paku Sándor tudományos főmunkatárs

A rosszindulatú daganatok áttétképzése során elengedhetetlen szerepe van a daganatsejtek mozgási képességének.

A szakirodalomban két fő mozgástípust írtak le részletesen, a fibroblasztokét, és a hal epidermiszsejtékét. A HT1080 humán fibroszarkóma sejtek mozgásának morfológiája, noha fibroblaszt eredetűek, mégis a halkeratocitákéhoz hasonló, és sebessége is meglepően nagyobb a többi tumorsejthez képest. Migrációjukat vizsgálva letapadási pontok csak a félkör alakú vezető lamella szegélyén figyelhetők meg, melyek dinamikájukat tekintve a mozgás közben görbe pályát írnak le a sejt mindkét oldalán (a GRE modell szerint).

Ezen adhéziós pontok sorsát, illetve a sejtvázs komponenseinek elrendeződését vizsgáltuk háromdimenziós rendszerekben konfokális- és elektronmikroszkópos technikákkal. Boyden-kamrában történő migráció során, a filter pórusán éppen áthaladó sejtek vezető oldalán egy adhéziós plakkokból álló gyűrűt figyelhetünk meg. A filter túloldalán a gyűrű átmérője fokozatosan nő, ezzel egyidőben a sejt kiterül. Az aktin kötegek közvetlenül a plazmamembrán alatt találhatók és kapcsolódnak az adhéziós pontokhoz. A mikrotubulusok az aktin szálakkal szorosan kapcsolatosan haladnak, míg a vimentin az aktin frontját később követi a sejtmaggal.

Eredményeink alátámasztják a kétdimenziós migrációban korábban tanulmányozott adhéziós plakk dinamikát és citoszkeleton elrendeződést, amelyek részben ellentétesek az irodalmi adatokkal.

A vizsgálatok az OTKA D48519, F46501 pályázatok keretében folynak.

SEJTBiol-5

**Letapadás és motilitás vizsgálata extracelluláris mátrix komponensek jelenlétében
sejtkultúrában**

Kiss Alexa

V. zoológus

SZIE ÁOTK Anatómiai és Szöveti Tanszék

témavezetők: Dr. Jancsik Veronika tudományos főmunkatárs

Cervenak Judit PhD hallgató

A sejtek szaporodása, differenciálódása és túlélése szempontjából alapvető azok kapcsolata a környezetükkel, melynek egyik meghatározó eleme az extracelluláris mátrix (ECM). Az utóbbi évtizedekben egyre nagyobb szerepet kapnak az ECM-mel kapcsolatos kutatások. Az intracelluláris és extracelluláris kompartmentek közötti kölcsönhatásokat transzmembrán adhéziós receptorok közvetítik. Ezek közül az integrin receptor-család a legismertebb. Az utóbbi években egyre több adat mutat arra, hogy a disztroglikán által szervezett fehérjekomplex is fontos résztvevője a sejtek és az ECM közötti kapcsolatoknak. Ez utóbbi fehérjekomplexről még nem áll elegendő adat a rendelkezésünkre.

A dolgozatban leírt kísérletekben a sejt-ECM kölcsönhatásokat sejtkultúrák felhasználásával modelleztük. E célra egér emlő epithel sejtvonalat (HC11), szarvasmarha kapilláris endothel sejtvonalat (BCE) és primer egér asztroglia tenyészetet használtunk. A kölcsönhatásokat kétféle kísérletes megközelítéssel vizsgáltuk. Az egyik sorozatban megfigyeltük a sejtek adhézióját borítatlan, illetve poli-L-lizinnel, laminin-1-el vagy kollagén IV-el borított műanyag aljzatokon. Másik kísérlet sorozatunkban videomikroszkópos berendezésben követtük a sejtek motilitását ugyanezek a felszíneken.

A sejtek letapadásának mértékéből feltételezésünk szerint elsősorban az adhézió erősségére és tartósságára következtethetünk, míg a motilitás főképp a kapcsolatok dinamizmusát tükrözi. Szakirodalmi adatok alapján a különböző sejt-típusok eltérő adhéziós receptor készlettel és/vagy mintázattal rendelkeznek. Azt a munkahipotézist állítottuk fel, hogy a letapadásban és motilitásban az egyes adhéziós receptorok eltérő mértékben működnek közre.

A letapadási kísérletek során a BCE sejtek esetében a kontrollként tekintett műanyag aljzathoz képest kollagénnel több sejt tapadt le. A HC11 sejtvonal sejteinek adhéziója a kollagénnel kisebb mértékű volt, mint a kontroll. Az asztroglia sejteknél nem tapasztaltunk releváns eltérést a különböző aljzatok között.

A motilitási vizsgálatok során azt tapasztaltuk, hogy az asztroglia sejtek átlagsebessége mindkét fehérje hatására nőtt. A HC11 és a BCE sejtek mozgását a kollagén csökkentette, a laminin pedig stimulálta.

Az apoptotikus sejtek gyulladásai citokin termelést szabályozó hatásának vizsgálata vad típusú és szöveti transzglutamináz (TG2) hiányos makrofágokban

Köröskényi Krisztina

V. molekuláris biológus

DE TTK

témavezető: Dr. Szondy Zsuzsa egyetemi tanár

Irodalmi adatokból ismert, hogy a sejtek apoptózissal történő elhalását nem követi gyulladásos válasz, szemben a sejtek nekrozissal történő elhalásával. Az irodalomból elfogadott nézet, hogy az apoptotikus sejtek felvétele során a makrofágokban megindul a gyulladáscsökkentő hatású TGF- β termelése, amely a makrofágra visszahatva csökkenti a gyulladás citokinek (pl.: TNF- α , IL-6) termelődését. Az inaktív, látens TGF- β aktiválásában részt vesz a szöveti transzglutamináz (TG2) is. Intézetünkben korábban megfigyelték, hogy TG2^{-/-} egerekben az apoptotikus sejtek fagocitózisa zavart szenvedett és a májban az apoptózist gyulladás kíséri. Kísérleteinkben ELISA technikával vizsgálni kívántuk, hogy a TG2 hiánya befolyásolja-e az apoptotikus sejtek gyulladás citokin termelést csökkentő hatását hasüregi, és csontvelői őssejtekből differenciáltatott, lipopoliszacharid (LPS) stimulált makrofágokban *in vitro*. Eredményeink azt mutatják, hogy a TG2^{-/-} makrofágok alig termeltek aktív TGF- β -t. Ennek ellenére a TG2^{-/-} és TG2^{+/+} makrofágok azonos mértékben reagáltak – a TNF- α és IL-6 termelés csökkentésével – az apoptotikus sejtek jelenlétére. Az apoptotikus sejtek gyulladás citokin termelést csökkentő hatása sejtfelülűszóval átvihető volt olyan LPS stimulált makrofágokra, amelyek nem találkoztak apoptotikus sejtekkel, utalva arra, hogy az apoptotikus timociták jelenlétében a makrofágok szolubilis gyulladáscsökkentő faktort termelnek. Az irodalmi adatokkal szemben ez nem TGF- β , mivel a hatás aktív TGF- β hiányában illetve annak blokkolásával is kiváltható volt. Támogatta: OTKA TO49445, 2N1ICOTSO2320

SEJTBIOL-7

Kisméretű molekulaklaszterek ép T limfóma sejtek membránjában és beljében

Mocsár Gábor

V. fizikus

DE-OEC Sejtbiológiai és Jelátviteli Kutatócsoport

témavezető: Dr. Vámosi György tudományos főmunkatárs

Az élő humán T sejtek plazmamebránjában az immunválaszban fontos szerepet betöltő MHC I és II glikoproteinek, valamint az interleukin-2 és -15 receptorok (IL-2R, IL-15R) több hierarchikus szinten szerveződött szupramolekuláris klasztereket alkotnak. A molekuláris szintű asszociációkon (nm-es lépték) túl néhány tíztől néhány száz nm-es átmérőjű aggregátumokba szerveződnek, melyek telített zsírsavlancú glikoszíngolipidekben és koleszterinben gazdag specifikus membrán mikrodoménekben, ún. lipid tutajokban dúsulnak fel.

Kíváncsiak voltunk arra, hogy a néhány nm-es molekuláris szintű szerveződés felbomlik-e akkor, ha a membránnak nincs mikrodomén szerkezete, illetve függenek-e a molekuláris szintű asszociációk a citoskeletontól.

A kérdések megválaszolásához T sejt apoptózisa során keletkező hólyagokat (bleb) használtunk modellrendszerként, mivel azok nem rendelkeznek citoskeletális kapcsolattal, s 200 nm-es felbontás mellett már nem látható semmilyen magasabb szintű szerveződés, feltehetően nincs jelen az élő humán T sejtekre jellemző membrán mikrodomén szerkezet. Így a bleb membránja egy majdnem sík, homogén összetételű plazmamembránnak tekinthető.

A méréseket humán eredetű FT7.10 T limfóma sejtvonalon végeztük. Az MHC I, MHC II, IL-2R alfa és IL-15R alfa molekulák jelölésére fluoreszcens festékekkel konjugált monoklonális antitesteket használtunk. A molekuláris kölcsönhatásokat: az MHC I és II homo- és heteroasszociációját, valamint az MHC I-nek az IL-2R alfavál és IL-15R alfavál kialakuló heteroasszociációját fluoreszcencia rezonancia energia transzfer (FRET) méréssel vizsgáltuk konfokális mikroszkóppal. Az energiatranszfer hatékonyságának meghatározásához intenzitás alapú kiértékelést használtunk.

A megfelelő epitópok között a FRET hatásfoka hibahatáron belül megegyezett az ép sejtek és a bleb-ek membránján. A kísérleti adatok arra engednek következtetni, hogy a T sejtek membránjában az általunk vizsgált kisméretű molekulaklasztereket összetartó kölcsönhatások a membrán nagyobb léptékű szerveződésének megszűnése után is fennmaradnak, és nem függnek kritikus módon a citoskeletontól.

Atomerő mikroszkópos vizsgálatok endothel sejteken

Nagy János Péter

V. fizikus

DE OEC Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

témavezetők: Dr. Jenei Attila egyetemi docens

Dr. Mátyus László egyetemi docens

Bodor Csaba PhD hallgató

Dr. Rosivall László egyetemi tanár

Munkánk során endothel sejtek fenesztrálódásának részletgazdag megjelenítésére és számszerű kiértékelésre alkalmas atomerő mikroszkópos mérési eljárásokat dolgoztunk ki. Két mérési eljárást alkalmaztunk; a "contact" és "tapping" módú eljárásokat. A kiértékelést és a megfigyelt objektumok méretének statisztikai analízisét számítógépes kiértékelő programok segítségével végeztük. Kísérleteinkben primer, humán köldökzsinór véna endothel tenyészetből származó sejteket 15percig illetve 48óráig 100 ng/ml VEGF-fel kezeltük. A p38 MAP kináz aktiválódását atomerő mikroszkóppal vizsgáltuk. Kimutattuk, hogy a VEGF kezelés fokozza az endothel sejt permeabilitását, citoszkeleton átrendeződést, továbbá a p38 MAP kináz korai aktivációját idézi elő, valamint a sejt-sejt kontaktusok fellazulását eredményezi. Atomerő mikroszkópiás vizsgálattal a fenesztráció előfordulásának változását sikerült kimutatnunk 15 perc és 48 órás VEGF kezelést követően. A p38 MAP kinázt gátló SB203580 előkezelés ugyanakkor megakadályozta a VEGF indukálta permeabilitás növekedést és megelőzte a sejt-sejt kapcsolatok szétnyílását. Fenesztrátumoknak tekintettük azokat a sejt felszíni nyílásokat, amelyek átmérője 50 és 300 nm közé esett és a nyílás mélysége elérte vagy meghaladta a 105 nm-t. A fenesztrálódott endotél felszínről nagy felbontású (8×8 ill. 2×2 és 1×1 µm nagyságú) képeket készítettünk a fenesztrátumok részletes tanulmányozása céljából. Eredményeink alapján a VEGF a p38 aktivációján és az azt követő citoszkeleton átrendeződésen keresztül szabályozza az endoteliális permeabilitást.

SEJTBiol-9

Kromatin szerkezet változás regenerálódó hepatocytákban és kémiai karcinogenezissel indukált hepatokarcinóma sejtekben

Somogyi Csilla

IV. biológus

DE TTK Mikrobiális Biotechnológiai és Sejtbiológiai Tanszék

témavezető: Dr. Bánfalvi Gáspár egyetemi tanár

Kísérleteink során a kromatin kondenzálást regenerálódó és daganatos patkány hepatocytákban vizsgáltuk. Patkány máj regenerálódását részleges hepatektómiával váltottuk ki, míg hepatómát karcinogén vegyülettel, N-dimetil-nitrozaminnal indukáltunk. A kétféle májból enzimes emésztéssel primer sejt kultúrát hoztunk létre, majd reverzibilis permeabilizálás után kromatint izoláltunk. Mind a regenerálódó, mind a daganatos májsejtek kromatinját diamidino-fenilindollal (DAPI) festettük és fluoreszcens mikroszkóppal vizsgáltuk.

A topoizomeráz I enzim több katalitikus aktivitással is rendelkezik: A DNS-t relaxálja, transzkripció modulátor, kináz aktivitással is rendelkezik. Janus arculatát mutatja, hogy topoizomerázként megvédi a sejteket a DNS károsodástól, másrészt illegitim rekombinációhoz vezethet, növelve a genom instabilitását. A topoizomeráz I szintje egészséges sejteken belül viszonylag alacsony és állandó, daganatos sejtekben több nagyságrenddel magasabb.

Nyugvó, G₀ fázisban lévő májsejteknel dekondenzált kromatin szerkezeteket figyeltünk meg. Regenerálódó májban szabályos sejt növekedést, míg hepatóma esetén sejtburjánzást észleltünk. Feltételezésünk szerint a mások által daganatos sejtekben mért magas topoizomeráz aktivitás a kromatin kondenzálásban is megnyilvánul, mivel az emelkedett topoizomeráz I szint növeli a szupertekercseltséget. Fluoreszcens felvételeken a regenerálódó májsejteknel valóban nem tapasztaltunk jelentős szupertekercselődést, ellenben daganatos sejteknel a DNS magas szupertekercseltsége a kromatin felvételeken látható volt. A hepatómában lejátszódó állandósult és ellenőrizetlen változásokkal szemben a regenerálódó sejtekben lejátszódó változások ideiglenesek és szabályozottak.

Kísérleti tapasztalataink szerint regenerálódó, interfázisban lévő sejtek kromatin állománya az egészséges sejtekre jellemző kondenzálási mechanizmust követi. Daganatos sejtekben a szupertekercseltség fokozódása figyelhető meg. A felgyorsuló kromatin kondenzálási folyamat következtében a sejtciklus lerövidül. A *circulus vicius* folytatódik, a lerövidülő sejtciklus miatt pontatlanná válik a DNS hibajavítás, mely esetenként apoptózisba torkollik. Az apoptotikus sejtek számának növekedését kísérleteink igazolták.

SZÜNZOOLÓGIA 1. (GERINCTELENEK) TAGOZAT

SZÜNZOOL1-1

A poloskafauna vizsgálata a Soroksári Botanikus Kert rezervátum társulásaiban

Adamkó Andrea

kertészmérnök (2006)

BCE KERTK Rovartani Tanszék

témavezetők: Rédei Dávid egyetemi tanársegéd

Dr. Mészáros Zoltán egyetemi tanár

Vizsgálatom célja a Soroksári Botanikus Kert természetvédelmi szempontból legértékesebb részeinek, az eredeti társulás-maradványok és rekonstruált természetközeli habitatok poloskafajainak felmérése és összehasonlító faunisztikai vizsgálata volt.

Ezen munka elkészülte előtt a terület Heteroptera állományáról semmit nem tudtunk. Így az eredmények mindenképp újszerűek és a terület fajgazdagságának, természetvédelmi szempontból való értékességének megítéléséhez nagyban hozzájárul. Kiváltságos helyzet az is, hogy egy botanikus kert által megőrzött társuláspárt vizsgálhattam.

A gyűjtés fűhálóval történt 2004 és 2005 nyarán. Ennek eredményeként 93 faj 1422 példánya került elő.

A mintákban természetesen a közönséges, tömegesen előforduló fajok voltak túlnyomó többségben, begyűjtésre került azonban néhány ritka vagy viszonylag ritka, faunisztikai szempontból érdekes faj is.

A pannóniai kékperjés rét és a nyílt, élő, mészkezelő homokpusztagyep két jelentősen eltérő élőhely lévén a területről származó mintákat összehasonlítottam. A metrikus többdimenziós skálázással kapott hasonlósági mintázatokon jól megfigyelhető volt, hogy a homokpusztagyepben begyűjtött poloskaminták mind a 2004, mind a 2005. évben jól elkülönültek a kékperjés lápréten gyűjtöttektől.

A minták fajszaám és egyedszaám szerinti megoszlásából is láthatóvá vált, hogy mind egyedszaám, mind pedig fajszaám tekintetében határozott különbség van a két eredeti társulásfolt között.

Kimutatható még, hogy mindkét társulásban jelen vannak az adott társuláshoz többé-kevésbé kötődő fajok is.

A begyűjtött fajokat állatföldrajzi elterjedési típusuk szerint csoportokba rendeztem és összehasonlítottam a két területet egymással és az országos eloszlással is. A palearktikus, holarktikus és kozmopolita fajok csoportja mind fajszaám, mind egyedszaám tekintetében jóval magasabb arányban volt jelen mindkét területen, mint azt a hazai fauna megoszlása alapján várhatnánk. Ez azzal magyarázható, hogy ebbe a csoportba nagyon sok tág túrésű, sokféle növénytársulásban előforduló, gyakori faj tartozik, melyek természetesen a vizsgált területen is nagy mennyiségben voltak jelen.

Összehasonlítottam továbbá a Hortobágyi és a Kiskunsági Nemzeti Park, valamint a Bátorligeti Természetvédelmi Területen végzett felmérések eredményeivel, és megállapítottam, hogy az eddigi vizsgálatok eredményei alapján a terület leginkább a Hortobágyi Nemzeti Park poloskafaunájával mutat hasonlóságot.

**Csipőszúnyog lárvá fajegyüttesek összehasonlító faunisztikai és fenológiai vizsgálata
tatai vizekben**

Bogyó Dávid
V. biológus-ökológus
DE TTK Ökológia Tanszék
témavezető: Dr. Szabó László József egyetemi adjunktus

A csipőszúnyogok egészségügyi jelentősége közismert. Gyérítésüket a vektor szerep mellett zaklatásuk is indokolja. A biológiai védekezés megjelenése miatt fontos a különböző fajok lárváinak és élőhelyeinek faunisztikai, illetve fenológiai megismerése. A faunisztikai kutatások hazánkban korán elkezdődtek, a Dunántúlon végzett felmérések eleinte főleg a Balatonnál történtek. Több későbbi dunántúli felmérés ellenére még vannak alig kutatott területek, utóbbiak közé tartozik Tata is. Vizsgálataimmal főleg a terület csipőszúnyog faunáját kívántam új adatokkal bővíteni, illetve a vizsgálatok rendszeressége miatt a lárvák fenológiáját szerettem volna feltárni különböző élőhelyeken.

Felméréseim során Tatán 5 lehetséges tenyészhelyet vizsgáltam: Cseke-tó melletti kisvíz, Angolkerti dísztó, Öreg-tó tófarok, belvárosi Által-ér szakasz, Réti-halastavak melletti lévő kisvíz. A gyűjtések (47 alkalom) 2004 decemberétől 2006 végéig, kb. 2 hetes rendszerességgel történtek. A gyűjtés általánosan használt lárvahálóval történt, a gyűjtött egyedeket etanollal tartósítottam.

Vizsgálataim során 21 faj 2564 egyede került elő. Új fajok a területre: *Ochlerotatus dorsalis*, *Ochlerotatus excrucians*, *Culex modestus*, *Uranotaenia unguiculata*. A fajsám a Réti-halastavak mellett volt a legnagyobb. Domináns faj az *Ochlerotatus cantans*, a *Culiseta annulata*, az *Aedes vexans* és az *Ochlerotatus annulipes*, szubdomináns faj a *Culex pipiens pipiens* volt. A Morishita indexek alapján a 2 év egészére és az évekre külön elvégzett cluster-analízisek eredményei szerint az Öreg-tó és a Cseke-tó melletti helyek mutatják a legnagyobb hasonlóságot. Diverzitás szempontjából a Cseke-tó és a Réti-halastavak melletti élőhelyek bizonyultak a legdiverzebbnek. A fenológiai adatfeldolgozás dekádokkal történt. Összesített, élőhelyenkénti, illetve domináns fajokra vonatkozó fenológiai vizsgálatokat végeztem az egyes évek tekintetében.

Vizsgálataim szerint úgy tűnik, hogy a víztér jellege és a zavarások szerepe nagy hatású a csipőszúnyog fajegyüttesek kialakulásában. Megállapítható, hogy a fajösszetétel és a lárvák mennyisége egymáshoz közeli vizekben is igen eltérő lehet. A csipőszúnyogok fenológiai viszonyai az egyes fajok tekintetében az egymáshoz közel eső élőhelyeket és az egymást követő éveket összehasonlítva is eltérőek. A különbség okai a mikroklimatikus adottságokból, a víztér állapotából és az élőhelyek kisvíz jellegéből adódhatnak. A tapasztalatok rávilágítanak a biológiai védekezés nehézségeire is.

SZÜNZOOL1-3

Gyepterületek arachnológiai összehasonlító vizsgálata különös tekintettel a *Pelecopsis loksai* vitorlaspók fajra

Fanaczán Anikó

V. alkalmazott zoológus

SZIE ÁOTK Ökológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Samu Ferenc tudományos főmunkatárs

konzulens: Dr. Elek Zoltán tudományos segédmunkatárs

A *Pelecopsis loksai* Szinetár & Samu, 2003 egy hazánkból újonnan leírt pókfaj, amelyet a Szársomlyón fedeztek fel, és máig is csak egyetlen másik lelőhelye ismeretes: a Budai hegységben a Kecske-hát nevű erdős hegyhát füves tisztásai. A faj az egyik legkisebb hazai pókunk. Példányait eddig kizárólag motoros rovarszippantó készülékkel sikerült gyűjteni, pedig lelőhelyén és a környező tisztásokon évekig folyt talajcsapdázás is. Szakdolgozati munkám megkezdéséig a faj a Kecske-hátnak csak egyetlen tisztásáról volt ismeretes, a környező, látszólag igen hasonló tisztásokról nem. Az ismert lelőhelyen viszont egy permanens populáció volt, mert az ivarérett állatok előfordulási időszakában, késő ősztől kora tavaszig, a begyűjtési kísérletek során mindig sikerült hozzávetőleg 20 példányt fogni.

TDK munkámban az egyetlen, látszólag izolált előfordulás talányát szerettem volna megfejteni. A következő kérdésekre kívántam választ találni: 1) Vajon előfordul-e a faj a környék hasonló adottságú élőhelyein? 2) Ha igen, akkor milyen biotikus (botanikai) és/vagy abiotikus (pl. kitettség, terület) környezeti paraméterekben hasonlóak egymáshoz azok a tisztások, ahol a *P. loksai* előfordul? 3) A *P. loksai*-val párhuzamban vizsgálni kívántam a tisztások pókközösségeit is, hogy jellemezhessem, hogy a faj milyen pókközösség része, mely fajokkal hasonlóak az élőhelypreferenciái.

A kutatási program véghezviteléhez a területen 10, az eredeti élőhelyhez hasonló foltot jelöltünk ki és vizsgáltunk meg. A gyűjtések mintanagyságát úgy terveztük meg, hogy a már ismert populációból kiindulva a mintavételezési erőfeszítés olyan nagy legyen, hogy abból nagy valószínűséggel a faj hiányát is meg lehessen állapítani. A mintavételezésre 2 éven keresztül 5 alkalommal került sor. Az eredeti élőhelyfoltot, mint kontrollt, szintén minden alkalommal bevontuk a mintavételezésbe.

Az eredetileg is ismerttel együtt összesen 11 vizsgált tisztásból a *P. loksai* 6-on fordult elő. A statisztikai elemzés célja, hogy sokváltozós módszerekkel meghatározzuk, a faj előfordulása leginkább mely környezeti paraméterekkel kapcsolatos, valamint milyen más pókfajok indikálhatják a jelenlétét. Távlati célunk egy prediktív modell létrehozása, amely alapján ismert paraméterű élőhelyekről megjósolhatjuk, hogy ott előfordul-e a faj. E modell révén szeretnénk kiválasztani először még csak a környező területeken a kritériumoknak megfelelő és meg nem felelő foltokat, ahol az előfordulást ellenőriznénk.

Levéltetű-hangya kapcsolat vizsgálata homoki habitat komplexben

Gulyás Eszter és Angyal Dorottya
biológus (2006); biológia tanár (2006)
SZTE TTK Ökológiai Tanszék
témavezetők: Dr. Molnár Nóra adjunktus
Dr. Gallé László egyetemi tanár

2005. májusától szeptember végéig a Kiskunsági Nemzeti Park bugacpusztai területén végeztünk kutatást, melynek célja a levéltetvek és hangyák közti kapcsolat szezonális és térbeli mintázatának, a hangyák alternatív-táplálékhasznosításának, viselkedési repertoárjának és kompetíciós viszonyainak felderítése volt. A vizsgálatok az erdősztyepp biom két jellemző élőhelyén és azok szegélyén folytak. A fehér nyár (*Populus alba*) harmincegy egyedén tizennégy komponensű catenáriumot tanulmányoztunk, mely a tápnövényen kívül három levéltetű- és tíz hangyapopulációt tartalmazott. A catenárium térbeli szerkezetének makett szimulációjára csalétkes állványokat használtunk, melynek három emeletére a levéltetvek mézharmatát utánzó fehérje-szénhidrát keveréket helyeztünk. A fajok identifikálását laboratóriumi körülmények között végeztük. Az adatok feldolgozásához a Spearman- és a Pearson-féle korrelációt, a Bray-Curtis-féle hasonlósági algoritmust és véletlen referenciát (null modellt) használtunk. Eredményeink szerint a *Chaitophorus populeti* levéltetű faj a szezon nagy részében domináns volt, míg a másik két faj szubdominánsnak számított. A levéltetű kolóniákat és a csalétket látogató hangyafajok között nem mutattunk ki korrelációt. A fehér nyáron kolonizáló levéltetvek és az ezeket gondozó hangyák együttes előfordulása szoros korrelációt mutatott, egyedszámuk a vizsgált periódusban egymással párhuzamosan változott. A gondoskodás mértéke fajonként eltérő volt a hangyák esetében. A különböző hangyafajok koegzisztenciája szignifikánsan kisebb volt, mint a null modell alapján prediktált értékek. Megfigyeléseink szerint azon hangyafajok táplálkozási sikeressége volt a legnagyobb, melyek gyorsan megtalálták a felkínált táplálékot és igyekeztek elkerülni az interspecifikus kompetíciót. Az agresszív, domináns fajok esetében a támadásra fordított energia általában nem térült meg.

SZÜNZOOL1-5

Levéltetű populációk vizsgálata selyemkóró állományokban

Harkai Anikó

V. biológus

SZTE TTK Ökológiai Tanszék

témavezető: Dr. Molnár Nóra adjunktus

A selyemkóró (*Asclepias syriaca* L.) meglehetősen gazdag rovarfaunával rendelkezik, de csak néhány faj fogyasztja ezt az invazív gyomnövényt. Vizsgálataink célja az volt, hogy Szank és Bugac környékén hét eltérő jellegű selyemkóró állományban felmérjük a növények levéltetű fertőzöttségét a növény szintjei, virág-, bimbó-, természsáma, magassága és levél területe függvényében. Megvizsgáljuk a levéltetvek és hangyák közötti mutualista kapcsolatokat és egyéb ízeltlábúak hatását erre a mutualizmusra. A méréseket két időpontban végeztük 2005. május és augusztus végén. A vizsgálati területek közé felhagyott szántó, akácos, gyümölcsös, nyílt homoki gye, természetközeli gye, fenyő- és nyárerdő tisztás tartozott, mert a növény jellemzően ezeken a területeken terjeszkedik. Területenként 10 véletlenszerűen kihelyezett kvadrátban minden növényegységet megvizsgáltunk. A legközelebbi szomszéd módszerével meghatároztuk a selyemkórók diszpergáltságát, amely minden területen aggregáltnak bizonyult.

Május végén 634 növényen 121497 *Aphis gossypii* levéltetű egyedet találtunk a kolóniák a növények felső szintjeit, a levelek színét, és a virágzatokat preferálták. Augusztus végén viszont 512 selyemkórón 35136 *Aphis nerii* levéltetű egyedet számoltunk meg, amelyek a levelek fonákán, és az alsóbb szinteken kolonizáltak. Spearman rangkorreláció mindkét mérésnél szignifikánsan kimutatta a levéltetvek szintenkénti preferenciáját, a Mann-Whitney teszt pedig a levél fonákja és színe szerinti preferenciájukat. A selyemkóró magasságával jelentősen növekedett a levéltetvek egyedszáma a természetközeli gye, a gyümölcsös és a felhagyott szántó kivételével. A levéltetvek előfordulása kapcsolatban állt a virágzatok és a termések arányával területenként különböző mértékben. A tápnövény minőségét jelző levél területtel rendszerint pozitívan korrelált a levéltetvek egyedszáma. A mutualista kapcsolatokban résztvevő hangyák (*Lasius*, *Formica* és *Tetramorium* fajok) szintenkénti eloszlása a növényeken hasonló volt a levéltetvek eloszlásához. A gondozott levéltetű kolóniák mérete többszöröse volt a nem gondozottakénak. A hangyák rendszerint a virágzatokat és levéltetveket is hordozó növényeket preferálták. A fátylekák peterakási mintázatát inkább a hangyák, a virágzatok és nem a levéltetvek jelenléte határozta meg.

A Tihanyi-félsziget vadméh faunájával kapcsolatos legújabb vizsgálatok

Havas Enikő

V. agrármérnök

SZIE MKK Állattani és Ökológiai Tanszék

témavezető: Dr. Sárospataki Miklós egyetemi docens

A Tihanyi-félsziget természetvédelmi szempontból nagyon jelentős, változatos, ugyanakkor igen érzékeny terület. Mint a Balaton környékén nagyon sok helyen, itt is fölmerülnek a turizmussal kapcsolatos erős antropogén hatások, amelyek a természeti környezetet nagymértékben befolyásolhatják. A félsziget összefoglaló méhfaunisztikai felmérését 20 évvel ezelőtt végezték el, melyből kiderül, hogy itt egy roppant változatos, különleges fajokban is nagyon gazdag területről van szó.

A vadméhek (*Apoidea* családsozozat) Európában a viráglátogató életmódra legjobban specializálódott rovarok. Ennek megfelelően a méhek rendkívül változatos és fajgazdag csoportja az életközösségekben kulcsszerepet tölt be. Így a természetközeli élőhelyek, és érzékeny természetvédelmi területek vadméhfaunájának felmérését érdemes bizonyos időközönként újra elvégezni, hogy következtetni lehessen az esetleges változásokra. Munkám célja volt, hogy friss faunisztikai adatokat szerezzek a Tihanyi-félsziget vadméh faunájára vonatkozóan.

A mintavételek a félsziget négy különböző pontján történtek a szezon három időszakában, ablakcsapdák segítségével. A gyűjtések minden alkalommal körülbelül tíz napig tartottak. Az ablakcsapda által begyűjtött, elsősorban repülő rovarokból álló anyagot laborba szállítottuk, és ott mikroszkóp alatt kiválogattuk belőle a méhfajokat, melyeket azután fajra meghatároztunk. Összesen 60 faj 206 egyedét gyűjtötték be a csapdák a félszigetről. A tihanyi Öreg Levendulásban (4. csapdahely) elhelyezett csapda fogta a legtöbb vadméh fajt és egyedet egyaránt. Erről a területről 33 faj 90 egyede került elő. A félszigeten legmagasabb egyedszámmal (53 egyed) a *Lasioglossum leucopum* faj képviseltette magát.

A csapdás felmérést hálózásos gyűjtés is kiegészítette, melynek anyaga még feldolgozás alatt van. Az aktuális méhfauna felmérése érdekében még legalább egy szezonban hasonló, vagy nagyobb intenzitású gyűjtésekre lenne szükség.

SZÜNZOOL1-7

Orthoptera-együttesek kompozicionális viszonyainak változása a Villányi-hegységben

Kisfali Máté

V. biológus-ökológus

DE TTK Evolúciós Állattani és Humánbiológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Rácz István András egyetemi docens

Nagy Antal tudományos segédmunkatárs

A Villányi-hegység Magyarország legdélebbi fekvésű hegysége, mediterrán vonásokban gazdag élővilága számos állat- és növénycsoport kutatóit vonzotta az elmúlt évtizedekben. Bár az első adatok a múlt század elejéről származnak, rendszeres orthopterológiai vizsgálatok 1997 óta folynak. Dolgozatomban a hegység jellemző egyenesszárnyú-együtteseinek összetételét és természetes dinamikáját az 1999-2005 közti időszak adatai alapján elemeztem.

A vizsgálat során kilenc mintaterületen 35 faj (17 *Ensifera*, 18 *Caelifera*), 2155 egyede került elő. A fauna védett fajai mellett (*Isophya modestior*, *Isophya modesta*, *Saga pedo*, *Aiolopus strepens*) a helyileg gyakori, ám országosan ritka mediterrán elemeket érdemes kiemelni, például a *Pterolepis germanica*, a *Pachytrachys gracilis*, vagy az *Odontopodisma decipiens*. A többváltozós elemzések során az együttesek három típusát különítettem el, melyek nem társulásokhoz, inkább az élőhelyek növényzeti struktúrájához köthetők (zárt sziklagyep-bokorerdő mozaik, zárt sziklagyep, nyílt sziklagyep). A "zárt-mozaik" típus fajszáma szignifikánsan magasabb volt a "nyílt" csoporttal szemben, ami az összetettebb növényzeti szerkezettel magyarázható. Az életformatípusok tekintetében, a "zárt" típusban szignifikánsan alacsonyabb volt a geobiontok aránya, mint a másik két csoportban. A nagyobb fajgazdagságnak és a speciális fajösszetételnek köszönhetően a legtöbb kvantitatív karakterfaj (5) a "zárt-mozaik" típus esetén volt kijelölhető. Ezzel szemben a "zárt" és "nyílt" típusoknak összesen egy közös szignifikáns karakterfaja adódott (*Chorthippus biguttulus*). Az együttesek abundancia-rang struktúrája – a Kendall-féle konkordancia profilok alapján – a teljes rangsor tekintetében, mindhárom típus esetén nagy állandóságot mutatott. A rangsorok elejének prediktálhatósága a "zárt-mozaik" csoportban viszonylag magasnak adódott, míg a "zárt" és "nyílt" típusban nagy változást mutatott.

Eredményeim, melyek a vizsgálatba vont együttesek hét éves monitoringján alapulnak, rámutatnak, hogy a közösségek gyakran jelentős mértékű természetes variabilitása erősen megnehezítheti az együttesek összetételének meghatározását és nem hagyható figyelmen kívül a hosszú távú adatsorok értékelésekor sem.

**A Magyarországon élő kaszáspókok (Arachnida: Opiliones) faunisztikai vizsgálata
– Kárpáti, mediterrán és alpesi hatások vizsgálata Magyarország kaszáspók faunáján**

Lengyel Gábor Dániel
V. biológia-környezettan
ELTE TTK Állatrendszertani és Ökológiai Tanszék
témavezető: Dr. Kotschán Jenő

Dolgozatom fő célja a magyar kaszáspókfaunáról szerzett irodalmi ismereteink, valamint az elmúlt három év során végzett kutatásaim összegzése volt. Ezek alapján megrajzoltam az egyes fajok jelenleg ismert előfordulásait 10x10 km-es UTM rendszerű térképeken, ismertettem a fajok szinonim neveit, a tisztázatlan taxonómiai helyzetű fajok esetén az MTM Állattárának Talajzoológiai gyűjteményében őrzött kaszáspók egyedek vizsgálatával igyekeztem kideríteni, melyik fajról lehet szó. Az eredményként kapott adatokon állatföldrajzi elemzést végeztem, ökológiai és természetvédelmi vonatkozások ismertetése mellett.

Hazánkból 34 kaszáspókfaj volt ismert (Lengyel és Murányi, 2006), ezek közül egy faj taxonómiai helyzete bizonytalan (*Nemastoma wiehlei* Roewer, 1951), egy alfaj, a *Carinostoma elegans batorligetiense* Szalay, 1951, neve érvényesnek tekinthető, továbbá az *Odiellus lendli* (Sørensen, 1894) faj a hazai fauna tagja. Vizsgálataim alapján hazánkból jelenleg 35 faj ismert alfajokkal együtt, 7 faj neve pontosan nem meghatározható valamint, további 15 faj észlelése várható a környező országok fauna adatai alapján.

Gyűjtéseim során több ritka faj újabb lelőhelyét sikerült fellelnem az ország különböző tájegységeiről. Gyűjtéseim helyszínét igyekeztem úgy választani, hogy azok közel essenek a publikációkban közölt gyűjtőhelyekhez. Ilyen irányú tevékenységem azonban nem járt sikerrel: az *Ischyropsalis hellwigi hellwigi* (Panzer, 1791), a *Paranemastoma quadripunctatum* (Perty, 1833) fajokat nem találtam meg az irodalmból ismert lelőhelyek közelében. A *P. quadripunctatum* és a *C. elegans* fajoknak újabb lelőhelyére bukkantam, az *Opilio dinaricus* Šilhavý, 1938 faj magyarországi jelenléte mecseki előfordulásával megerősítést nyert.

Az ország területén számos állatföldrajzi hatás érvényesül, amelyek közül a legjelentősebb az európai és a közép-európai. Több dél-európai hatást képviselő faj is fellelhető hazánk területén, amelyek a dinári és a balkáni hatást igazolják. Jelenlegi ismereteink szerint egyetlen faj, a *Leiobumum tisciae* (Avram, 1968) pannon elterjedésű, egy alfaj (*C. elegans batorligetiense*) endemikusnak tekinthető.

SZÜNZOOL1-9

Fenológiai vizsgálat homokpusztagyepék és szikesek Orthoptera-együttesein

Oláh Tamás és Robotka Ákos Gábor

V. biológus-ökológus

DE TTK Evolúciós Állattani és Humánbiológiai Tanszék; Növénytani Tanszék

témavezetők: Dr. Rácz István András egyetemi docens

Nagy Antal tudományos segédmunkatárs

Kutatásunk során az időjárás és a gyepruktúra éven belüli változásának hatását vizsgáltuk az egyenesszárnyú-közösségek összetételére. Választ kerestünk arra, hogy vannak-e különbségek a szikes és homoki gyepek Orthoptera-inak fenológiájában, és ha igen, mi okozza ezeket. Továbbá vizsgáltuk, hogy kimutathatók-e a növényzet aszeptusaihoz hasonló diszkrét szakaszok az egyenesszárnyú-együttesek fenológiájában.

A vizsgált gyepekben az összesített egyedszám június közepétől július legelejéig, az imágók egyedszáma és a fajok száma pedig július végén – augusztusban volt a legnagyobb. Az Ensiferák kezdetben magas aránya a gyepek kiszáradásával és a sáskalárvák kikelésének megindulásával erőteljesen lecsökkent.

A homoki és szikes területeken élő Orthoptera-k vegetációs periódus alatti dominanciaváltozásaiban jelentős különbségeket mutattunk ki. Homoki területeken előbb a chortobiont, később a geobiont, szikeseken ezzel ellentétben előbb a geobiont, majd a chortobiont fajok aránya volt magasabb. Ennek magyarázatát a gyepek eltérő mértékű nyári kiszáradásában kereshetjük. Homoki mintaterületeinken összefüggést találtunk az életformatípusok arányváltozása és a gyepruktúra éven belüli változása közt, szikeseken pedig kimutattuk a két vizsgálati év során eltérő mennyiségben hullott tavasz végi csapadék hatását az életformatípusok arányaira. A hőmérséklet és a napsütéses órák számának változása pedig az imágók egyedszámára volt kimutatható hatással.

A vizsgált Orthoptera fajokat a gyepekben való jelenlétük ideje alapján négy csoportba soroltuk. Magyaráztuk, hogy a homoki és szikes gyepek közös fajai közül egyesek miért kerültek eltérő fenológiai kategóriába a két gyeptípus esetében. Megállapítottuk, hogy a területek teljes fajkészletének megismeréséhez évente minimum 3 mintavétel szükséges, melyeket június közepén vagy végén, augusztus, és szeptember közepén ajánlatos végezni.

Kutatásunknak számottevő gyakorlati jelentősége lehet a természetvédelemben az élőhely- és fajmonitorozások során.

Holt fa hatása erdei csigafajok mennyiségi viszonyaira

Páll-Gergely Barna

III. biológus

PTE TTK Általános és Alkalmazott Ökológiai Tanszék

témavezető: Dr. Sólmos Péter, egyetemi tanársegéd

konzulens: Dr. Csabai Zoltán, egyetemi adjunktus

A holt fa jelenléte az erdők természetességének mutatója. Ökológiai és természetvédelmi szempontból egyaránt fontos a holt fához kötődő állatok vizsgálata. Kutatásaim során azt vizsgáltam, milyen hatása van a holt fának az erdei csiga-együttesek faj- és egyedszámára, milyen az egyes csigafajok térbeli eloszlása (preferenciája) a holt fa függvényében, és milyen hatása van az erdőtípusnak az eredmények általánosíthatóságára.

A mintavételi területek közül egy ártéri tölgy-kőris-szil ligeterdő, egy fenyves, és hat bükkös volt.

A mintavétel során erdönként 10-20 párosított mintát vettem a holt fához közeli és attól 2 m-re levő avarból, ahol lehetett kéreg alól és korhadó fából is gyűjtöttem. Az egyelées mintavétel mikroélelőhelyenként 8 percig tartott (összesen 260 db 8 perces minta). Rögzítettem az előkerült csigafajok élő egyedszámát, a holt fa átmérőjét, korhadási állapotát, az avarvastagságot és az avarnedvességet. A csigákat (51 faj 1500 egyede) többnyire terepen meghatároztam, bizonyos taxonok esetén szükség volt anatómiai vizsgálatra is.

Az elemzés (általánosított lineáris és additív modellek, regressziós fa) során a csigák faj- és egyedszáma volt a függő változó, és a faátmérő, korhadási fok, avarvastagság és avarnedvesség szerepelt folytonos függő változóként. A mikrohabitat (közeli avar, távoli avar, kéreg alatt, korhadék) rögzített faktorként, a mintavételi hely és a minta-pár véletlen faktorként szerepelt a modellekben.

Az eredmények szerint a holt fa jelenléte és az avarnedvesség pozitív hatással van a csigák faj- és egyedszámára, az avarvastagság hatása nem jelentős. A faj- és egyedszám a holt fa korhadtsági fokával nem lineáris módon csökken, a faátmérővel nem mutatott kapcsolatot.

Az egy nemzetségbe tartozó fajok hasonlóképpen viselkednek a különböző erdőkben, több nemzetség esetében a fajok ritkasága miatt ezt nem lehet kijelenteni. A vékony héjú, mozgékony fajoknál megfigyelhető, hogy a holt fától távol nagyobb az egyedsűrűségük, vagyis ellenkezőleg viselkednek, mint a fajok többsége. Ennek oka lehet, hogy a többi fajjal szemben a számukra szükséges források nem a holt fához kötődnek.

A bükkösökkel összevetve a fenyves faunája hasonlóan fajgazdag volt. Az ártéri erdőben a fajszám jóval alacsonyabb, és akadt egy faj melynek egyedszáma a holt fától függetlenül magasnak adódott. Bükkösök esetén az eddigi eredmények elég jó egyezést mutattak, az eredmények több erdőtípust érintő általánosításához több fenyvesből és ártéri erdőből szükséges még minta.

SZÜNZOOL1-11

Ökológiai vizsgálatok a *Carabus hungaricus* egy populációján

Soltész Zoltán

V. biológus

ELTE TTK Állatrendszertani és Ökológiai Tanszék

témavezetők: Peregovits László főmuzeológus

Dr. Szél Győző főmuzeológus

A magyar futrinka (*Carabus hungaricus* Fabricius, 1792), homokpuszták és dolomitgyepek lakója. Ökológiai jellemzői alig ismertek. Hazánkban 2001 óta fokozottan védett (eszmei értéke 100 000 Ft), Natura 2000-es jelölőfaj. Bár a szomszédos országokban is honos, Közép-Európában nálunk ismert a legtöbb populációja. Célkitűzésünk e faj természetvédelmi ökológiai vizsgálata volt. A 2005-ben megkezdett vizsgálataink során e faj szezonális dinamikáját, denzitását és ivararányát becsültük, valamint mozgásmintázatát és mikroélőhely-preferenciáját vizsgáltuk. Mintaterületként a Szentendrei-sziget közepén fekvő Pócsmegyer melletti árvalányhajas homokbuckát választottuk, ahol 270 élvefogó sör-glükolos talajcsapdát helyeztünk ki egy 103×35 m-es területre 4×4 m-es négyzetrácsban. A példányokat a jelölés-visszafogás vizsgálat során egyedi azonosítószámmal láttuk el. 2005-ben 26 alkalommal 2244 fogást regisztráltunk, ez 1463 példányt jelent.

Eredményeink szerint a növényzet típusának és borítottságának nem volt szignifikáns hatása a bogarak fogási valószínűségére. A mozgáselemzések azt mutatják, hogy nem az elengedési hely közvetlen környezetében lévő talajcsapda fogja vissza az állatokat, tehát az élvefogó, csalogatóanyaggal ellátott talajcsapda alkalmasnak bizonyult a populációméret becslésére. A nemek közötti vonzás elemzésének eredményeként azt kaptuk, hogy ez nem befolyásolta a csapdába esés valószínűségét, azaz nem torzította a mintavételt. 2005-ben a rajzás csúcsa szeptember közepe és október eleje között volt. A legpontosabb populációméret becsléseket a rajzáscsúcs időszakában kaptuk. A populációméret becsléséhez a Jolly-Dickson-féle teljes modellt használtuk. A modellszelekció során az AICc értékek alapján a legátogatottabbnak a jelölési időpontonként különböző visszafogási valószínűségekkel és konstans túlélési valószínűséggel (nőstényeknél $0,88 \pm 0,01$; hímeknél $0,89 \pm 0,01$) számoló modell bizonyult.

A jelölés-visszafogásos módszer nagyon időigényes, azonban jól alkalmazható a természetvédelmi ökológiai kutatásban a biológiai alapinformációk megszerzésére. A mindennapi természetvédelmi gyakorlatban a megkívánt nagyon intenzív mintavétel miatt alkalmazása ugyanakkor kevésbé valószínű, ezért egyszerűsített, de kalibrált módszerek kidolgozása elengedhetetlenül fontos.

A szürkés boglárkalepke *Maculinea alcon* (DENIS et SCHIFFERMÜLLER 1775) fajkomplex (Lepidoptera: Lycaenidae) populációinak hangyagazda specifitás vizsgálata (Hymenoptera: Formicidae) a Kárpát-medencében

Vályi Nagy Marianna

V. kertészmérnök

BCE KTK Rovartani Tanszék

témavezetők: Dr. Haltrich Attila, egyetemi docens

Dr. Csősz Sándor tudományos főmunkatárs

A *Maculinea* génusznak 4 faja ismert hazánkban: *M. teleius*, *M. nausithous*, *M. arion*, *M. alcon alcon*, *M. alcon xerophila* (syn.: *Ma. rebeli*). Ez utóbbi két taxon helyzete nem kellőképpen tisztázott, a jelenlegi genetikai vizsgálatok alapján ökotípusoknak tekinthetők, bár többen alfajként tárgyalják. A hazai állomány élőhelyeinek többsége az utóbbi évtizedekben erősen leszűkült, vagy teljesen megszűnt. Populációit a kipusztulás veszélye fenyegeti. Fajaik több természetvédelmi egyezmény tárgyát is képezik, és egyaránt szerepelnek a hazai, valamint az európai Vörös Könyvben. Életük meghatározó részét *Myrmica* hangyák fészkeiben szociálparazitaként élik. Hernyóik obligát mirmekofílek. Életmódjuk alapján két csoportot alkotnak: kakukkok (hangyagazdáikkal kapcsolatuk mutualisztikus), vagy predátorok (hangyafészkeket parazitálók).

Diplomamunkámként egy konkrét hangyaboglárka fajegyüttes, a *Maculinea alcon* komplex hangyagazdáit vizsgáltam. Kutatásaim a Magyar Természettudományi Múzeum Állattárának munkatársaival, a MacMan nevű RTD európai uniós project keretén belül végeztem. A terepmunkák 2 vegetációs periódusban, 2004 és 2005 években folytak.

Mintavételi helyek voltak: *Erdélyben*: Torockószentgyörgy (Bédellői-havasok), Kis-Cohárd, Kupás-patak, Gődöc (Gyergyói-havasok), Gyergyóújfalu, Vasláb (Gyergyói-medence), Csíksomlyó (Csíki-havasok), Vargyasi-szurdok (Hargita). *Magyarországon*: Kercaszomor (Őrség), Kunpeszér (Kiskunság), Vérteskozma (Vértes), Nagykovácsi (Budai hegyek).

Munkám során a következő kérdésekre igyekeztem választ kapni:

- a) Adott lepkefaj jelenléte, vagy hiánya nem függ a hangyaközösség összetételétől.
- b) Adott területen a lepkehernyó a potenciális hangyagazdák bármelyikét preferálja.

Eredményeim alapján mindkét állítás helytelennek bizonyult. Valamennyi boglárkalepke hangyagazda specialista. Míg a *Maculinea alcon alcon* (lápréti ökotípus) esetében a *Myrmica scabrinodis* a hangyagazda, addig a *M. alcon rebeli* (szárazréti ökotípus) preferenciája a *Myrmica sabuleti* és *My. schencki* között oszlott meg. A *Myrmica* fajok között nincs átfedés, a választás filogenetika alapján történik.

SZÜNZOOLÓGIA 2. (GERINCESEK) TAGOZAT

A folyami géb [*Neogobius fluviatilis* (Pallas, 1814)] és a tarka géb [*Proterorhinus marmoratus* (Pallas, 1814)] terjedése a Közép-Tisza vízrendszerében

Antal László

V. biológus hallgató

DE TTK Hidrobiológia Tanszék

témavezető: Dr. Nagy Sándor Alex egyetemi docens

konzulens: Dr. Harka Ákos tudományos tanácsadó

Az utóbbi évtizedekben több – korábban csak a Fekete-tenger partvidékéről vagy a Duna alsó szakaszáról ismert – gébfaj jelent meg vizeinkben. Térhódításuk helyszíne elsősorban a Duna, de a folyami és a tarka géb a Tisza hazai szakaszán is terjed. Munkánk célja a két faj terjedésének nyomon követése, továbbá az inváziójukat befolyásoló tényezők feltárása volt.

Vizsgálatainkat 2003 és 2006 között a Zagyva, a Hanyi-ér, a Laskó, az Eger-patak, a Hejő, valamint a Sajó vízgyűjtőjén végeztük, gyűjtőeszközként 3x2 méteres, 6 mm szembőségű kétközhálót használtunk. A terepmunka során a tarka gébet 15 vízfolyás 48 lelőhelyén, a folyami gébet 6 víztér 15 pontján mutattuk ki, s ezzel a két gébfaj terjeszkedését lényegében sikerült feltérképezni a Közép-Tisza jobb parti mellékfolyóin.

Tapasztalataink szerint a gébek terjedésében négy tényező játszik fontos szerepet:

1. A fajok megjelenése óta eltelt idő. Ennek következtében a Közép-Tiszában 6 évvel korábban megjelent tarka géb több mellékvízfolyásban van jelen, és nagyobb területet hódított meg, mint a nyomában haladó folyami géb.

2. A továbbterjedés kiindulópontját képező populációk egyedsűrűsége. A túlszaporodó populációk halai új víztípusokba is gyorsan behatolnak (pl. sebesebb patakokba), míg alacsony egyedsűrűség mellett inkább a helyben rendelkezésre álló élőhelyeket népesítik be.

3. A vízfolyások mederesése. A nagy mederesés következtében kialakuló sodrás gátat szab a gyenge úszóképességgel rendelkező gébfajok terjedésének. A tarka géb a vizsgált terület csekély vízhozamú patakjaiban 1,7 m/km, a bővebb vízű kis folyókban 1,2 m/km mederesésig hatol fel.

4. A víz hőmérséklete. A magasabb vízhőmérséklet elősegíti a gébek terjedését. Ennek tudható be, hogy a ludasi lignitbánya vizével táplált, ezért a hűvös évszakokban néhány fokkal magasabb hőmérsékletű Bánya-vízben a tarka géb egyrészt gyakoribb, másrészt lényegesen nagyobb (4,2 m/km) mederesésig hatol fel, mint a befogadó Bene-patakban.

Észleléseink alapján tarka géb terjedésének sebessége mintegy 10 km évente, míg az erőteljesebb folyami géb egy év alatt 25-30 kilométert haladt fölfelé. Térhódításuk várhatóan tovább folytatódik a Közép-Tisza vízrendszerén.

SZÜNZOOL2-2

Élőhelydegradáció hatása védett lápterület kisemlős közösségének szerkezetére és a populációk mennyiségi viszonyaira

Bálint Diána

V. biológia-környezettan

PTE TTK Állatökológia Tanszék

témavezető: Dr. Horváth Győző egyetemi adjunktus

A Nemzeti Biodiverzitás-monitorozó Rendszer keretében 1999-2005 között a kisemlősök, kiemelten a reliktum északi pocok (*Micotus oeconomus*) állományának monitorozását végeztük. Az 1999-ben megtalált populáció élőhelyét folyamatosan (évi 4-5 alkalommal), fogás-jelölés-visszafogás módszerrel monitoroztuk, amely során nyomon követtük az itt élő kisemlős közösség összetételének és az egyes populációk állományának változását. A vizsgált területen az emberi beavatkozások (égetés, kaszálások) és az ezzel együtt jelentkező kedvezőtlen időjárás hatására megindult az eredeti homogén sásos láprét degradálódása. Az élőhelyi változások a kisemlősök közösségi szintű összehasonlításában négy időszak elkülönítését indokolták: (1) természetközeli élőhely, az északi pocok jelen volt a területen, (2) égetés, kaszálás és aszályos időjárás együttes megjelenése, az északi pocok eltűnt az élőhelyről, (3) az antropogén hatások megszűnése és a csapadékosabb időjárás pozitívan hatott az élőhely minőségére, (4) az antropogén hatás megszűnése és az átlagosnál csapadékosabb idő tartós vízborítottságot eredményezett, azonban a vegetáció minőségének javulása mellett ez már több faj számára negatív kényszert jelentett. Megjelent a csaltitjáró pocok (*Microtus agrestis*), de az élőhely specialista északi pocok nem. A periódusok közötti faj kicserélődést a Baroni-Urbani-Buser bináris komparatív index alapján mértük. A fajösszetétel legnagyobb hasonlósága a 2. és a 3. periódus között volt. A kezdeti időszak közösségének komponensei jelentős mértékben kicserélődtek a másik két periódusban, amit a védett vízi cickányok és a veszélyeztetett északi pocok elvesztése és a szárazabb élőhelyeket kedvelő fajok megjelenése okozott. Az időszakok közötti fajkicserélődést a McNemar-tesztek is igazolták, amelynél a legnagyobb χ^2 -értékeket az északi pocok vonatkozásában kaptuk.

A kisemlős közösség szerkezetében bekövetkező változásokat a cluster analízis során kapott dendrogramok is jól reprezentálják. Az eredmény arra utal, hogy a környezeti hatásokra és az emberi beavatkozásokra érzékeny refugialis mocsaras területen a védett és a fokozottan védett fajok és az az élőhelyre jellemző kisemlős közösség akkor őrizhető meg hosszú távon, ha az élőhelyi degradációt kivédő, az élőhely speciális fajok ökológiai igényeinek megfelelő kezelést alkalmazunk.

Környezeti tényezők hatása odúlakó madarak fészkelésére Kőszegen és Sopron környéki élőhelyeken

Barki Márta

V. környezetmérnök

NYME-EMK Erdő- és Faanyagvédelmi Intézet

konzulens: Dr. Traser György egyetemi docens

konzulens: Dr. Gyurácz József főiskolai tanár

Dolgozatomban kőszegi (Chernel-kert) és Sopron környéki (Botanikus kert, Dudlesz-erdő, Ferenc-forrás, Löverek, Szanatórium kert, Tolvaj-árok) fészekodútelepeken gyűjtött adatokat dolgoztam fel. Korábbi erdőmérnök hallgatók 1950-70-es években gyűjtött, és saját magam által 2005-2006-ban gyűjtött adatokat használtam fel a dolgozatomban.

Célom a madártelepítés népszerűsítése mellett a régi adatok számítógépes adatbázisba rendezése és feldolgozása volt. Vizsgáltam az egyes élőhelyek fajösszetételét, és fészkelésbiológiai adatokat gyűjtöttem a Chernel- kertben és a Botanikus kertben.

Míndez számokban összefoglalva:

7 vizsgálati helyszín

49 vizsgálati év

1630 odú

646 költés

16 megtelepedett faj (széncinege, kék cinege, csuszka, mezei veréb, nyaktekeres, fenyvescinege, seregély, kerti rozsdafarkú, örvös légykapó, fákusz, házi veréb, nagy fakopáncs, szalakóta, házi rozsdafarkú, búbos cinege, kormos légykapó).

A széncinege volt eudomináns (dominanciája >10%) minden helyen, ezért a környezeti tényezők (élőhely, hőmérséklet, fészekodú típusa, kitettség, magassága) hatását ennél a fajnál vizsgáltam alaposabban.

Megállapításaim a széncinegéről:

- A B típusú, 2,5 – 3 m magas, nyíltan elhelyezkedő odúkat kedveli.
- Egyenlő arányban (26-38 %) foglalta el az összes égtáj felé kirakott odúkat.
- Átlagosan 8 tojást rakott, melyből 7 fiókát kelt és 6 repült ki.
- A tojásrakás kezdetének optimális időszaka április 15-24.
- Az első tojást akkor rakta legtöbb esetben, ha a napi középhőmérséklet 9 - 14,5 °C közt volt.
- Míg az első tojás lerakásához tartozó hőmérsékletösszeg az évek folyamán emelkedő tendenciát mutat, addig a tojásrakás napja alig változik, csak kis mértékű ingadozás figyelhető meg az átlagos 106. nap körül. A 2006. év ilyen szempontból átlagos volt számára.

Gyakorlati tapasztalataim: Az odúkat változatosan kell kihelyezni, ez magasságra, típusra, kitettségre egyaránt vonatkozik. Ne takarja semmi az odút, mert csak így foglalják el. Ha további felhasználásra szánjuk az odúellenőrzéseken gyűjtött adatokat, legalább hetente kell ellenőrizni.

SZÜNZOOL2-4

**A bagolyköpet vizsgálatok adatainak tájléptékű elemzése a kisémlősök
elterjedésének monitorozásában**

Dudás Réka

V. biológus

Pécsi Tudományegyetem TTK, Állatökológia Tanszék

témavezető: Dr. Horváth Győző egyetemi adjunktus

A kisémlősök bagolyköpet gyűjtéseken alapuló elterjedésének és a mennyiségi viszonyainak változását követő monitorozás eredményeinek feldolgozásában alapvető cél, hogy a köpetgyűjtések és feldolgozásuk földrajzi tájegységekhez, középtájakhoz kötődjenek. A korábbi tapasztalatok alapján az NBmR protokoll megváltoztatását a mintavételek száma, a területi lefedettség javítása indokolta.

A program metodikáját tekintve az új protokoll a mintavétel alapegységeként az eddig alkalmazott 10 x 10 km-es UTM háló helyett tájegységeket határoz meg, azaz a gyűjtéseket és értékeléseket Magyarország tájkataszteri felosztása alapján a középtájakra vonatkoztatja. Adott tájegységre vonatkozóan egy minimális köpetszám begyűjtése kötelező évente. A dolgozatban az NBmR bagolyköpet-vizsgálatokon alapuló kisémlős monitorozásának 2000-2005 között kapott adatait dolgoztuk fel különböző tájléptékű skála alapján.

Nagyfaj léptékben a baglyok vadászati eredményéből reprezentált kisémlős fauna összehasonlító elemzését végeztük el, ahol az összesített adatok homogenitás tesztje mellett a hatéves vizsgálati időszakot a 2003-ban csúcsosodó aszály előtt és utáni időszak bontásában is megvizsgáltuk. Az adatokat középtáj szinten is értékeltük, és ahol ezen belül a mintavételi pontok több kistájra estek, ott megvizsgáltuk, hogy az adott középtájra összesített reprezentáció mennyiben homogén, vagy inhomogén az egyes kistajak viszonyában. Hét olyan középtáját emeltünk ki (Külső-, Belső-Somogy, Drávamenti-síkság, Mecsek és Tolna-Baranyai-dombvidék, Közép-, és Felső-Tiszavidék, Nyírség), ahol a több minta és az ebből adódó nagyobb köpetszám nagyobb mennyiségű alapadatot szolgáltatott a faj-gyakorisági viszonyok értékeléséhez. A hét középtájból a Nyírség kivételével a többi esetében a mezei pocok volt a domináns faj, de a legtöbb esetben a faj aránya csak 30% körüli érték volt, és csak a Közép-Tiszavidéken közelítette meg az 50%-ot. Ezeknél a középtájaknál minden esetben jelentős volt a cickányok aránya, főként a keleti cickány fordult elő nagyobb mennyiségben. A kisémlős populációk egyedszám-arányaiban bekövetkező változásokat a gyöngybagoly köpetek elemzése közvetve nyomon követi, így a faunisztikai értékelés mellett a fajok állomány viszonyainak alakulásáról is képet kapunk.

Szegélyek és a betakarítás hatása energiafűben megtelepedő kismélsős populációkra

Gunszt Dóra

IV. biológus

PTE TTK Állatökológia Tanszék

témavezető: Dr. Horváth Győző egyetemi adjunktus

A mezőgazdasági tájban a kismélsősök nem véletlenszerű közösségeket alkotnak, de összetételük erősen változik az évek folyamán. Azonban ezeket a folyamatokat csak akkor értjük meg, ha a különböző monokultúrák és azokat körülvevő élőhelyek vizsgálatát párhuzamosan végezzük. A kismélsősök gyorsan kolonizálódnak, magas a turnover értékük, így alkalmas modellállatok a tájszintű populációs és közösségi folyamatok tanulmányozására. A kismélsősök monitorozását 2005-2006-ban a Görcsöny-Keresztespuszta mellett található energiafű táblán végeztük. Mindét évben két kvadrátot (50x50 m) jelöltünk ki. 2005-ben a mintavételi területek úgy helyezkedtek el, hogy az energiafű parcella és vele szomszédos más területek (akácus erdő, búzatábla) között fellépő szegélyhatást is figyelembe tudjuk venni. 2006-ban az erdőt érintő kvadrátunk megmaradt, a másikat az energiafű ültetvény középső részén jelöltük ki, ahol nem volt szegély. Fogás-jelölés-visszafogás módszeren alapuló elevenfogó csapdázást alkalmaztunk, 2005-ben június-október, 2006-ban június-szeptember között végeztük a felmérést.

A karakter populációk (*M. arvalis*, *A. agrarius*, *A. flavicollis*) megoszlása szezonális különbséget mutatott, amit jelentősen befolyásolt az energiafű kaszálása és szomszédos mezőgazdasági terület művelése. 2005-ben a mezei pocok az energiafűben maradt, de populációja összeomlott, melyben szerepet játszott az a tény, hogy ez a faj nem használta az erdőszegélyt, vagy az erdőt és a felszántott szomszédos mezőgazdasági táblát sem. Az erdei fajok a kaszálás után az erdőszegély és az erdőfolt irányába élőhelyet váltottak. A pirók erdeieget továbbra is nagy számban fogtuk meg az energiafűben, bár forráspopulációja a szegélyben volt kimutatható. 2006-ban a pirók erdeieget folyamatosan jelen volt az energiafűben, míg a mezei pocok jelenléte kisebb arányú volt, és populációdinamikája eltért az előző évtől.

Az eredmények azt mutatják, hogy a pirók erdeiegetnek a kaszálás után is jobban megfelelt az energiafű területe, mint az erdő, de elsősorban az erdőszegélyt használta. A kaszálás, mint területhasználati beavatkozás leállította a kismélsősök őszi sűrűség-növekedését, ami leginkább a gradációra legjobban hajlamos mezei pocok létszámcsökkenésében nyilvánult meg. Tehát az energiafű, mint új élőhely alkalmas több fajból álló kismélsős közösség eltartására, de az egyszeri kaszálása is nagymértékben befolyásolja a jelenlévő populációk demográfiai és térbeli mintázatát.

SZÜNZOOL2-6

A töviszúró gébics (*Lanius collurio*) őszi vonulása és térbeli eloszlása egy nyugat-magyarországi élőhelyen

Janzsó Gréta

IV. biológia-környezetvédelem

BDF TTK Állattani Tanszék

témavezető: Dr. Gyurácz József főiskolai tanár

A Tömördi Madárvártán 1998 és 2004 között befogott 453 töviszúró gébics (*Lanius collurio*) adatait felhasználva vizsgáltam a faj vonulásának dinamikáját és élőhely-választását az őszi vonulási időszakban.

Az alábbi kérdésekre kerestem a választ:

1. Hogyan változik a töviszúró gébics egyedszáma évről évre az őszi vonulási időszakban?
2. Mely időszakban vonul át a legnagyobb számban a töviszúró gébics a vizsgált területen?
3. Van-e különbség a felnőtt (öreg) hímek és tojók, illetve a fiatal (a gyűrűzés évében tojásból kikelt madár) és a felnőtt (öreg) madarak vonulása között?
4. Mennyi időre szakítják meg vonulásukat a madarak a tömördi Nagy-tónál és környékén?
5. A vonulásukat megszakító madarak raktároznak-e jelentősebb zsírtartalékot a megfigyelt területen?
6. A különböző vonulási időszakokban befogott madarak szárnyhossza különbözik-e egymástól?
7. Mely élőhely-típusban pihennek meg nagyobb számban a madarak?

A vizsgált területen a vonuló populációk állományának nagysága stabil volt az 1998 és 2005 közötti időszakban. Az őszi vonulás csúcsideje augusztus hónap első, vagy második felére tehető, amikor a vonulásukat megszakító madarak a legnagyobb számban vannak jelen a vizsgált területen. Különbség mutatkozott a fiatal és az öreg madarak vonulása között. A hímek és a tojó példányok vonulása között szignifikáns különbség nem mutatkozik, vonulásuk ideje – kis különbséggel – egybeesik. Az egyes évek gyűrűzési időszakában visszafogott madarak aránya 14 és 34 százalék között változott. A visszafogott madarak átlagos tartózkodási ideje 9 nap, a minimum 2 nap, a maximum 44 nap volt. A visszafogott madarak 61 százaléka 4 napot, vagy annál kevesebb időt töltött Tömördön.

A vonulásukat megszakító madarak a vizsgált területen nem raktároztak jelentősebb zsírtartalékot és mellizmuk fejlettsége sem gyarapodott. A szárnyhossz vizsgálatok eredményei alapján elmondható, hogy a szeptemberben és október elején vonuló gébicsek, akik valószínűleg Északnyugat-Európából származtak, szárnyhossz értékei 2004-ben szignifikánsan nagyobbak voltak a július-augusztusban gyűrűzött példányokénál.

A gébicsek elsősorban a bokrokkal tarkított, nyílt heterogén gyeptársulásban és a tóbokorfűzes részében pihennek meg, kerülnek a zárt töviskes és erdős élőhelyeket.

Faállomány hatása a költő madárközösségre őrségi erdőkben

Mag Zsuzsa

V. biológus

ELTE TTK Növényrendszertani és Ökológiai Tanszék

témavezető: Dr. Ódor Péter tudományos munkatárs

A faállomány, valamint a költő madárközösség kapcsolatát elemeztük az Őrségi Nemzeti Park területén. A faállomány mért változói a fák méret és fafaj szerinti megoszlásai, záródás, újulat, és a holtfa. A madárközösség vizsgált változói a fajszám, az egyedszám, egyes fajcsoportok fajszáma és/vagy egyedszáma (harkály egyedszám), és egyes fajok előfordulása (fekete harkály, csilpcsalpfüzike, kékcinege, fenyvescinege, széncinege, csuszka). Célunk olyan modellek építése, amelyek segítségével a madárállomány egyes változói becsülhetők a faállomány alapján.

A madárállomány felmérése a költési időszakban két alkalommal elvégzett pontszámlálással történt. A háttérváltozó-adatokat a mintaterületeinken belül kiválasztott 40×40 méteres négyzeteken belül gyűjtöttük. Az adatokat ordinációs módszerekkel (redundancia-analízis) és általános regressziós modellek építésével elemeztük.

Elemzéseink alapján a madárközösséget alakító legfontosabb faktoroknak az állomány kora (átlagos faegyedek mérete), a második gyertyán lombkoronaszint, újulati szint, és gyep szint tulajdonságai, a holtfa mennyisége, az állomány záródása, illetve az elegyfák és a lucfenyő aránya voltak. Az utolsóként felsorolt két változó kivételével a madárközösséget befolyásoló háttérváltozók szerkezeti jellegűek, elsősorban az állomány vertikális vagy horizontális szintjeinek meglétét és fejlettségét jellemzik. A madárközösség fajszámát az állományok strukturális és faji diverzitása (források sokfélesége), míg a madárközösség egyedszámát inkább a fák mérete (források mennyisége) határozta meg. Eredményeink alapján a harkályok a kisebb záródású, több álló holtfát tartalmazó, idős állományokban jelennek meg nagyobb számban. Az elemzett hat madárfaj esetében jellemző volt, hogy egy-egy faj egy-négy, viszonylag speciális szerkezeti elem meglétét igényelte.

Mind a madárközösség összetétele és fajgazdagsága, mind az egyes fajok előfordulása esetében az állományok kora ill. a fák mérete az egyik leglényegesebb faktor. A madárközösség szempontjából számos olyan szerkezeti elem bizonyult fontos tényezőnek, amelyre a ma elterjedt nagyüzemi vágásos erdőgazdálkodás homogenizáló hatása negatívan hat (pl. nagy fák jelenléte, vertikális szerkezeti diverzitás, heterogén lombkorona, holtfa). Kutatásunk azért is időszerű, mert az utóbbi tíz évben számos, zárt erőkhöz kötődő madárfaj állománya csökkenő tendenciát mutat élőhelyük látszólagos megléte ellenére, így különösen fontosá válik pontos ökológiai igényeik feltárása.

SZÜNZOOL2-8

A nádiposzáta és tücsökmadár fajok őszi vonulásának időzítésváltozása

Miholcsa Tamás

V. biológus

ELTE Anatómiai-, Sejt- és Fejlődésviológiai tanszék

témavezető: Dr. Csörgő Tibor tudományos munkatárs

Az atmoszféra átlaghőmérséklete az elmúlt évszázadban 1,5-2 °C-al emelkedett, és a tíz legmelegebb nyár az elmúlt tizenöt évben volt. A globális éghajlatváltozás okozta hőmérsékletemelkedés természetesen nem azt jelenti, hogy évről-évre egyre melegebb lesz, hanem csak tendencia jelleggel érvényesül. Ezért nehéz megállapítani, hogy az egyes madárfajoknál az őszi vonulás időzítésében észlelt változás az adott egyedek aktuális évi időjárásra adott fiziológiai válaszai, vagy már a fajra ható, az éghajlatváltozás miatt bekövetkező szelekciós nyomás evolúciós eredménye-e? Vizsgálatainkat az Ócsai Madárvárta Egyesület madárvártáján standardizált feltételek mellett 1987-2004 között befogott transz-szaharai, hosszú-távú vonuló nádiposzáta (*Acrocephalus*) és tücsökmadárfaj (*Locustella*) fajok adata alapján végeztük. Évente korcsoportonként megszerkesztettük az őszi vonulás kumulatív diagrammait, és ezekből megállapítottuk az 50- és 90 %-os fogási értékek dátumait. Ezeket az adatokat ábrázoltuk az évek sora és az augusztusi átlaghőmérsékletek függvényében, és vizsgáltuk az illesztett egyenesek paramétereit. A nagyon közeli rokon fajok az éghajlatváltozásra különböző irányban és mértékben reagáltak. A korábban vonuló fajok egyre korábban, míg a későbbben vonulóké egyre későbbben vonulnak. Szignifikáns változást egyaránt találtunk a vonulás időzítésének évenkénti alakulásánál és az augusztusi átlaghőmérsékletek függvényében is. Az okokat eltérő vonulási és vedlési stratégiájukban kereshetjük.

Énekesmadarak habitat preferenciájának vizsgálata

Preisznér Bálint

V. biológia-földrajz

ELTE TTK Anatómiai, Sejt- és Fejlődésbiológiai Tanszék

témavezető: Dr. Csörgő Tibor tudományos segédmunkatárs

Az élőhely preferencia minden élőlény meghatározó tulajdonsága. Ezért a preferencia mintázat pontos ismerete elvi fontosságú a közösségek szerkezetének megértéséhez, gyakorlati szempontból faj-, és élőhely védelmi tervek kialakításához. Az Ócsai Madárvártán több éve folynak ilyen jellegű kutatások. A terület vegetációja antropogén hatások következtében rendkívül mozaikos, nincsenek nagy, összefüggő, homogén élőhelyek, ezért optimális arra, hogy információt szerezzünk jó mozgásképességű fajok habitat preferenciájának nagyságrendjéről.

Vizsgálatunkat 2002-2005 között végeztük. Karakterisztikus, a területre legjellemzőbb 14 énekesmadár faj preferenciáját vizsgáltuk. A különböző, a területre jellemző vegetáció típusokban felállított 51 db háló helyét GPS-szel meghatároztuk. Összehasonlítást végeztünk a fajok között a fészkelési és a fészkelés utáni időszakban, fajokon belül a két időszak adatainak eloszlása között, és a fészkelés utáni időszakban a korcsoportok között is. A térinformatikai és a visszafogási adatok alapján fajonként vizsgáltuk a mozgáskörzetek méreteit a különböző időszakokban.

A különböző fajok élőhely preferenciája mindkét időszakban lényegesen eltérő, de a preferencia mintázata fajokon belül is változó. A fajok különböznek a tekintetben, hogy a két elkülönített időszak között milyen mértékű preferenciaváltozáson mennek keresztül. Fajokon belül a korcsoportok között nincs lényeges különbség. Vizsgálatunk alapján az énekesmadarak élőhely választása sokkal kisebb léptékű, mint az egy homogénnek látszó élőhelyen elvárható lenne. A vegetációstruktúra megváltozása néhány méteres nagyságrendben nagy változásokat idéz elő a madárfajok térbeli eloszlásában, ezért akár kis léptékű mozaikosság is fontos minősítő tényezője lehet egy élőhelynek. A fajok azonban eltérő módon reagálnak a változásokra. Egyes fajokra nézve már a kis léptékű fragmentáció is veszélyt jelenthet, míg más fajok számára kedvező hatással bírhat. A teljes fajlista értékelése, a preferencia léptékének megállapítása után ez a módszer alkalmas lehet más területek alapállapotának felmérésére, kezelési tervek elkészítéséhez információ szolgáltatására, ill. monitorozására is.

SZÜNZOOL2-10

Együttélő rágcsáló populációk túlélési és mozgási mintázata védett erdei és újraerdősödő terület használata függvényében

Soós Nándor

V. biológus

PTE TTK Állatökológia Tanszék

témavezető: Dr. Horváth Győző egyetemi adjunktus

A mérsékelt övi erdőkben történő élőhelyi változások (egyres területek faállományának teljes letermelése, az így kialakuló fragmentáció, a tervezett úratelepítés, vagy a spontán újraerdősödés) indikálására a gerincesek, különösen a kisemlősök igen alkalmasak.

A Dráva felső szakaszán 2000 őszén egy fokozottan védett égerligetben (Gyékényes: Lankóci-erdő) kezdődött meg a kisemlősök élvefogó csapdázásos monitorozása. A zárt erdőtag mellett, a 2000-ben letermelt, majd fokozatosan újraerdősödő területen is elkezdődött a monitorozás. A 2003-2006-ban kapott adatokat dolgoztuk fel, különös tekintettel a 2005 és 2006-os évekre, amikor a két területen négy alkalommal tudtunk öt napos mintavételezést végezni. A területen három domináns teresztrisz kisemlős populáció, a vöröshátú erdei pocok (*Clethrionomys glareolus*), a pírók erdeieger (*Apodemus agrarius*) és a sárganyakú erdeieger (*Apodemus flavicollis*) kvadrátok közötti megoszlását, mozgását elemeztük. Azt a nullhipotézist vizsgáltuk, hogy a két terület közötti migrációs irányok, valamint az adott területeken becsülhető túlélési és fogási valószínűség, illetve a különböző mozgási vektorok iránya és mennyisége különbözik az egyes karakter fajoknál és nem független a két terület minőségétől.

A kvadrátok közötti mozgások értékeléséhez a fogási adatok alapján azokat az egyedeket használtuk fel, amelyek legalább két alkalommal kerültek megfogásra. A túlélés és elmozdulási valószínűség modellezéshez a MARK programot használtuk. A multi-strata modellek alkalmasak a metapopulációs megközelítésű elemzésekre, amikor az egyes strata, rétegek különböző méretű és minőségű, valamint egymástól különböző távolságokban található izolátumok, foltok vagy szigetek.

Az elmozdulási vektorok χ^2 -tesztje alapján nullhipotézisünket – miszerint az elmozdulások iránya a különböző fajoktól és az élőhely típustól nem független – elfogadtuk, ugyanis a 2003-as év kivételével az elmozdulások irányában az élőhelyek és a fajok között is szignifikáns különbségeket kaptunk.

Vizsgálataink bizonyították, hogy a végvágásos erdőművelés, illetve az ezt követő újraerdősödő terület megváltoztatja az eredeti összefüggő erdőben jellemző populációs viszonyokat. Az újraerdősödött terület és a védett, nem kezelt erdő között denzitásfüggő migrációs folyamatok alakulnak ki, a populáción belüli egyedek elmozdulási iránya nem független a különböző erdőfoltoktól, valamint az eltérő vegetációjú foltok hatással vannak a kisemlősök túlélési stratégiájára.

**Az erdei pinta (*Fringilla coelebs* L.) bioakusztikai vizsgálata
urbán környezetben (Sopron)**

Szolnyik Csaba

V. környezetmérnök

NYME EMK

konzulens: Dr. Winkler Dániel egyetemi docens

Dolgozatomban az antropogén környezetben élő erdei pinta (*Fringilla coelebs* L.) hímek territóriumvédő énekét vizsgáltam Sopronban. Kontrollterületnek három, egymástól földrajzilag elhatárolt erdei pinta territórium területet választottam. A kontrollterületek közös jellemzője, hogy minden esetben kisebb zavartsági mutatókkal rendelkeznek, mint a Sopronban felvett területek. Ennek számszerűsítésére az adott területet jellemző hangnyomásszintet mértem, valamint forgalomszámlálást végeztem. A legmagasabb értékeket a Széchenyi-téren kaptam, a legkisebbet a sörházdombi próbaterület adta.

Az erdei pinta énekét orvitoakusztikai módszerek használatával elemeztem. A rögzített hanganyag digitalizálása után a hangfizikai jellemzők közül a szólam-hosszúságot és a domináns frekvenciát határoztam meg és alkalmaztam az egyes mintaterületek jellemzésére. A két említett jellemző között korrelációs vizsgálat során csak laza kapcsolat mutatkozott. Szoros, $P=0,01$ szinten szignifikáns összefüggést sikerült viszont kimutatnom az alapzaj és a domináns frekvencia között. A minta- és kontrollterületek összehasonlítását páronkénti t-próbával végeztem el, amely jól mutatta a közel egyező zajterhelésű területek hasonlóságát.

Városi zöldterületeinket a zavartsági mutatók illetve a területet borító növényzet struktúrája jellemzi, amely két tényező hatással van az erdei pinta strófahossz és domináns frekvencia megválasztására. Ezáltal az egyes területeken éneklő erdei pinta hímek tereink és parkjaink biológiai tesztjét is elvégzik.

SZÜNZOOL2-12

A barna varangy spermaháztartása

Vági Balázs és Hévízi Gergely

V. biológus; biológus (2006)

ELTE TTK Állatrendszertani és Ökológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Török János egyetemi docens

Dr. Hettyey Attila posztdoktor

A megtermékenyítési siker az egyik legfontosabb tényező, ami befolyásolja mind a hímek, mind a nőstények szaporodási sikerét. Kellően nagy számú spermium leadása, ami nagyarányú megtermékenyülést biztosít, így mindkét nem alapvető érdeke. Azon fajoknál, ahol a hímeknek lehetőségük van rövid időn belül többször párosodni, az egyedek spermatartalékai kiürülhetnek, és az egyes hímeknek körültekintően kell beosztaniuk tartalékaikat. Jelen vizsgálatunk barna varangy (*Bufo bufo*) hímek szaporodási potenciáljának ismételt párzások során bekövetkező változásaival foglalkozik. Az ejakulátumméretet gumióvszerrel felfogott ejakulátummintából, a herékben tárolt spermiummennyiséget a herékből készített szuszpenzióból, Bürker-kamra segítségével becsültük.

A spermatartalék, az ejakulátumméret, a megtermékenyítési siker és a hímek párzásra való hajlandósága egyaránt jelentősen lecsökkent három párzás során. Eredményeinkből arra következtetünk, hogy a hímek a párzási időszak kezdetén rendelkezésre álló spermiumkészletet használják fel, és két párzás között nem képesek készleteiket feltölteni. Minthogy az ejakulátumméret és a megtermékenyítési siker már három párzás során erősen lecsökkent, a hímek spermiumtartalékai – úgy tűnik – kevés sikeres párzást tesznek lehetővé. A barna varangynál így a párzások folyamán konfliktus léphet fel a hímek és a nőstények között olyankor, amikor egy előzetesen már többször párzott hím találkozik egy peterakásra készülő nősténnyel.

TAXONÓMIA ÉS POPULÁCIÓGENETIKA TAGOZAT

TAX-POPGEN-1

A hazai *Synophrus* (Hymenoptera: Cynipidae: Synergini) fajok genetikai változatossága

Bozsóki Zoltán

V. biológus

SZTE TTK Ökológiai Tanszék

témavezető: Dr. Pénzes Zsolt egyetemi docens

A gubacsképző életforma az evolúció során számos alkalommal jelent meg. Az egyik legváltozatosabb csoport a gubacsdarazsak (Cynipidae), amelynek kb. 1400 leírt faja képes gubacsképzésre. A csoport valódi fajgazdagsága két okból is bizonytalan. Egyrészt fajsztű rendszerük revízióra szorul: a jelenleg érvényes fajnevek jelentős hányada vélhetően szinonim, ami a fajgazdagság túlbecslését eredményezi. Másrészt folyamatosan kerülnek leírásra új fajok- még az intenzíven tanulmányozott régiókból is.

Jelenleg a *Synophrus* genus (Hartig, 1843) mindössze 3 palearktikus elterjedésű fajból áll. A három ismert faj közül kettő, a *Synophrus politus* és a *S. pilulae*, mediterrán régióban és Közép-Európában fordul elő, mindkettő ismert Magyarországról is. A harmadik, a *S. olivieri* csupán Észak-Afrikából, Iránból és Izraelből ismert, azonban státusza bizonytalan. A genus fajai speciálisak abban a tekintetben, hogy noha morfológiai alapon egyértelműen a gubacsindukcióra nem képes inkvilinek (Synergini) közé tartoznak, fajspecifikusnak tekinthető gubacsformával jellemezhetőek. A Cerris tölgyszekcióba tartozó fajokon fejlődnek, darázs gazdájuk, gazdaspecifitásuk alapvetően ismeretlen. A legtöbb inkvilinhez hasonlóan nagyon változatos morfológiával jellemezhetőek, így határozásuk is bizonytalan.

Vizsgálataink célja a *Synophrus politus* és *pilulae* fajok gazdaspecifitásának, populációszerkezetének és filogenetikai kapcsolatainak tisztázása. Magyarországon 7 területéről gyűjtöttünk *Synophrus* gubacsokat, melyekből laboratóriumi körülmények között imágókat neveltünk ki. A kirepült egyedek meghatározása után azokról DNS-t izoláltunk. Az elemzéseket a gubacsdarazsak körében általánosan használt magi (28S rDNA D2 régió) és mitokondriális (citokrom c oxidáz I-es alegysége és citokrom b) génrégiók DNS szekvenciája alapján végeztük.

Az elemzésekhez felhasznált, 48 egyedből származó szekvenciák alapján 3 jól elkülönülő kládot kaptunk, ebből egyik a *Synophrus politus* a másik kettő viszont morfológiai alapon *S. pilulae*-nak bizonyult. Így ez utóbbi egy kriptikus fajt is tartalmazhat. A Synergini szintű filogenetikai rekonstrukció faj szintű különbségekre utal. Eredményeink alapján pillanatnyilag elképzelhető, hogy a genetikai differenciáció a gubacsdarazsak körében ritka gazdaspecifitás eltolódására vezethető vissza.

Morfometriai vizsgálatok a díszes tarkalepke (*Euphydryas maturna* Linnaeus, 1758) hazai populációiban

Juhász Edit

V. biológus

DE TTK Evolúciós Állattani és Humánbiológiai Tanszék

témavezető: Dr. Pecsénye Katalin egyetemi docens

A díszes tarkalepke – *Euphydryas maturna* (Linnaeus, 1758) – Európa-szerte csökkenő népességű, speciális életmenetű és élőhely-igényű faj. Ezért az Európai Unió Élőhely Irányelve alapján szigorú védelmet élvez. Magyarországi populációi erősen helyhezkötttek, szigetszerűek, metapopulációs hálózatokat képeznek. A lepkék lokálisan fordulnak elő, de az adott helyen tömegesek lehetnek.

Munkám során azt tűztem ki célul, hogy megvizsgáljam a morfológiai variabilitás mértékét és szerkezetét a díszes tarkalepke kelet-magyarországi populációiban. Azt vártam, hogy a korábban végzett enzimpolimorfizmus vizsgálatok eredményeihez hasonlóan, a morfológiai jellegekben is számottevő mértékű differenciálódást tapasztalok a populációk között.

A vizsgálatokban 11 populációt elemeztem a számyméretek és mintázatok alapján. Mintegy 400 egyed állt rendelkezésemre 4 különböző régióból (Körösök vidéke, Bereg, Nyírség, Sajólad).

A hierarchikus variancia analízisben a jellegek totális varianciájának legnagyobb hányadát a populációkon belül, az egyedek közötti különbségek magyarázták. A régiók közötti és a régiókon belül, a populációk közötti variancia komponensek hasonlóan alacsony szintűek voltak. A főkomponens analízisben a populációk egyedei meglehetősen diffúz pontthalmazt alkottak. A jellegek populációs átlagait elemezve magas szintű differenciálódást tapasztaltam a régiókon belül, a populációk között. Ebből adódóan viszont a régiók nem különültek el jelentős mértékben egymástól. A mért adatok alapján Mahalanobis távolságot számoltam a populációk között, és fenogramot szerkesztettem a jobb és a bal oldali jellegekre külön-külön. A két fenogram között minimális a különbséget tapasztaltam. Az azonos régiókból származó populációk egyik fenogramon sem klasztereződtek egy ágba.

Összességében megállapítottam, hogy a díszes tarkalepke vizsgált populációi a morfometriai jellegekben is erősen differenciálódtak az egyes régiókon belül, miközben a régiók egymástól való elkülönülése alacsony szintű volt. A genetikai variabilitáshoz hasonlóan, a fenotípusos varianciának sincs tehát földrajzi mintázata.

TAX-POPGEN-3

A Kárpát-medencei parlagisas-populáció összehasonlító genetikai elemzése

Kovács Szilvia

V. alkalmazott zoológus

SZIE ÁOTK Ökológiai Tanszék

témavezetők: Kalmár Lajos tudományos munkatárs

Horváth Márton parlagisas-védelmi koordinátor

konzulens: Schrott Anikó PhD hallgató

A parlasi sas (*Aquila heliaca*) súlyosan veszélyeztetett faj, az erdőssztyepp régió csúcsragadozója, a Kárpát-medencétől a Bajkál-tóig fészkel. Mindössze 2-3000 pár él belőle a világon, ebből 75-80 pár hazánkban. A vizsgálat során a Kárpát-medencei és az északnyugat-kazahsztáni Naurzum Nemzeti Parkban élő parlagisas-populációk genetikai összetételét hasonlítottuk össze a mitokondriális DNS kontroll régiójának vizsgálatával. A kutatás célja a két populáció genetikai távolságának megállapítása és a Kárpát-medencei populáció genetikai diverzitásának felmérése volt.

Az újszerű, nem-invazív mintavételi módszerünk során az egyedek vedlett tollaiból vontuk ki a DNS-t, így elkerülhető volt az érzékeny faj zavarása. A toll felső köldökénél a tollfejlődés után visszamaradó vérrögéből kinyert DNS elegendő 30 PCR-alapú genetikai vizsgálathoz. Az elemzéshez 19 különböző madár mintáit használtuk, melyek magyarországi fészkelőhelyeken (16) és a Hortobágyi Nemzeti Park Ragadozómadár-telepén (2) gyűjtött tollakból, továbbá egy szlovákiai fióka vérmintájából származtak.

A mitokondriális DNS kontroll régiójában található hipervariábilis domén I 345 bázispár hosszú szakaszát szekvenáltuk meg. A kapott szekvenciák haplotípusát megállapítottuk és összehasonlítottuk az északnyugat-kazahsztáni, már publikált eredményekkel (Martínez-Cruz *et al.*, 2004), ahol 20 madárból öt polimorf lókuszt alapján négy haplotípust írtak le: „D” (50%), „E” (40%), „F” (5%) és „G” (5%). A Kárpát-medencei populációban négy polimorf lókuszt és négy különböző haplotípust sikerült beazonosítani: „E” (42,1%), „G” (15,8%), „K” (31,6%), „L” (10,5%). Ebből kettő új, még nem publikált haplotípus („K” és „L”). A két populáció haplotípus-eloszlása eltért, a fixációs index alapján genetikailag izoláltak. A diverzitási mutatók szerint a Kárpát-medencei populációban nagyobb a genetikai variabilitás.

A vizsgálatban kidolgozott módszerek segítségével további minták analízisét követően lesz lehetőségünk korrekst statisztikai kiértékelésre. További populációk bevonásával átfogó elemzést készíthetünk a faj genetikai összetételéről és a különböző populációk kapcsolatairól.

TAX-POPGEN-4

**A cserregő (*Acrocephalus scirpaceus*) és énekes nádiposzáta (*Acrocephalus palustris*)
elkülönítésének nehézségei**

Kutnyánszky Vera

IV. biológus

ELTE TTK Anatómiai, Sejt- és Fejlődésbiológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Csörgő Tibor tudományos munkatárs

Dr. Vellai Tibor egyetemi docens

A két közel rokon faj elkülönítése nehézkes, közben is csak apró morfológiai bélyegek alapján lehetséges. A két faj habitatpreferenciája eltérő, így különbség van a lábszerkezetükben. A cserregő nádiposzáta lábujjai a vastag nádszálhoz, az énekes nádiposzáaté a vékony, kétszikű növényzethez adaptálódott. A szárnyhossz és a második kézevező belső zászlójának bemetszeshossza az eltérő vonulási stratégia következtében mutat eltérést. Ezek a morfológiai bélyegek önmagukban átfedést mutatnak, ezért az elkülönítésre ezekből számolt indexeket is kidolgoztak, amelyek bizonyos területeken akár 100%-os elkülönítést tesznek lehetővé. Ezek a bélyegek azonban populációs ill. földrajzi változatosságot mutatnak, ezért alkalmazhatóságukat nem lehet általánosítani.

1988-2006 között az Ócsai Madárvárta Egyesület madárvártáján befogott 14 792 cserregő nádiposzáta és 6 495 énekes nádiposzátaról felvett adat alapján, a bélyegekhez tartozó átfedési értékekkel számszerűsítettük a használhatóságukat a hazai állományra. Az átfedési értékeket korcsoportonként fajokra adtuk meg, mert a két faj mintaszáma és eloszlása különbözött.

Az egyedi bélyegeknél a talphossz átfedési értéke a legalacsonyabb. A páronként vett bélyegeknél akkor kaptunk alacsonyabb átfedési értéket, amikor a talphosszat állítottuk párba. A vizsgált madarak ökofajok, ami nagyobb szelekciós nyomást gyakorol a morfológiai bélyegek alakulására, mint a vonulási stratégia. A bélyegek együttes összevetése is magas átfedési értéket eredményezett.

Összességében mindegyik index mutatott átfedést, így az Európában használatban lévő indexek egyike sem alkalmas a hazai egyedek határozására. Ennek oka részben, hogy az élőhelyek fragmentalizálódása és degradációja miatt a két faj természetes izolációja megszűnik, a vizes élőhelyekre jellemző zonációk összekeveredhetnek, aminek következtében a költőterületek vegetációja mozaikossá válik, így a két faj egyedei kapcsolatba kerülnek, ami hibridizációra ad lehetőséget. A felvett morfológiai bélyegek segítségével a hibrid egyedek nem különíthetők el.

TAX-POPGEN-5

Taxonómiai és filogenetikai vizsgálatok tintagombaszerű (coprinoid) nagygombafajokon

Nagy László

IV. biológus

SZTE TTK Mikrobiológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Vágvolgyi Csaba egyetemi docens

Dr. Papp Tamás egyetemi adjunktus

A *Coprinus* nemzetségbe tartozó gombafajok talán a legismertebbek közé tartoznak. Fontosságukat példázza genetikai modellorganizmusként való alkalmazásuk. Munkámban a *Coprinus* s. lat. fajokra vonatkozó kutatásaimat mutatom be; foglalkozom a szóban forgó fajok nemzetség-szintű taxonómiájával, a *Glabri* szekción belüli fajhatárokkal, és a hazánkból ismertté vált taxonok elterjedésével.

A coprinoid *Basidiomycetes* fajok taxonómiája az egyik legvitatottabb a nagygombák nemzetség-szintű rendszertanában. Molekuláris filogenetikai eredményekre alapozva, különösebb morfológiai vizsgálatok nélkül az egyöntetűnek gondolt *Coprinus* nemzetséget 4 új génuszra bontották fel. Az új nevek, és a *Psathyrella* nemzetség parafiliája sok taxonómust elretentett az új taxonómia elfogadásától. Morfológiai magyarázatot keresek mind a *Psathyrella* és *Coprinus* fajok rokonságára, mind a *Coprinus* nemzetségen belüli problémákra vonatkozó filogenetikai eredményekre. Főleg kalapbőrtulajdonságok alapján egy olyan evolúciós hipotézist vázolok, ami a jelen filogenetikával jól korrelálva magyarázza a *Psathyrella* és *Coprinus* jellegű termőtestek közötti váltást. Továbbá, egy szélesebb molekuláris filogenetikai analízissel megmutatom, hogy egy alaposabb mintavétel eredményéből közel sem olyan egyértelmű a 4 új génusz autonómiája, mint azt a szerzők sejtették.

A *Coprinus* s.l. nemzetség – persze sok másikkal hasonlóan – nem mentes faji szintű taxonómiai problémáktól. Ez különösen igaz a *Glabri* (és *Auricomi*) szekciókra, melyek fajait hagyományosan élőhely, cisztida- és spóraalak alapján írták le. Munkámban morfológiai és molekuláris (nrDNS ITS) vizsgálatokkal próbálom elvégezni a leírt fajok revízióját és megállapítani a karakterek tényleges taxonómiai értékét. A herbáriumai anyagok morfológiai vizsgálatát típus-tanulmányokkal egészítem ki. Kiderül, hogy a fentebb említett morfológiai tulajdonságok közül csak a spóraalak és -méret használható a fajok elkülönítésében és hogy igen sok jelenleg elismert fajt szinonimként kell kezelni.

Magyarországon a *Coprinus* s. l. fajok elterjedése igen hiányosan ismert. Munkámban az utóbbi években gyűjtött hazai fajok kommentált listáját készítettem el. 56 fajt Magyarországra, 10 faj a tudományra újként jelzek. Javaslatot teszek a nagygombák Vörös Listájának *Coprinus* fajaira vonatkozóan.

TAX-POPGEN-6

Tarsza fajok (Isophya, Orthoptera) összehasonlító elemzése mtDNS analízissel és aktivitás vizsgálattal

Szloboda Anita és Boros Melinda

V. biológia-környezettan

PTE TTK Állatökológia Tanszék; Genetikai és Molekuláris Biológiai Tanszék

témavezetők: Vadkerti Edit egyetemi adjunktus

Dr. Putnoky Péter egyetemi tanár

Magyarországon hat tarsza (Orthoptera, *Isophya*) faj fordul elő. A populációgenetikai és morfológiai elemzések során kapott eredmények alapján a fajok evolúciós- illetve származási kapcsolatának tisztázása további vizsgálatokat igényel. Jelen kutatás célja, a hazai *Isophya* fajok rokonsági fokának elemzése.

Az analízist egyrészt a széles körben alkalmazott *mitokondriális DNS (mtDNS)* vizsgálatának alapján próbáltuk megvalósítani. A mtDNS anyai úton öröklődik, az általa kódolt gének és nem kódoló DNS-szakaszok mutációs rátája nagyon eltérő, így a különböző DNS-szekvencia elemzésekkel széles evolúciós skálán lehet összehasonlító vizsgálatokat tenni. Számos faj teljes mitokondriális szekvenciája ismert, és mára már sok univerzális primer segíti a kutatásokat. A megfelelő, összehasonlítani kívánt szakasz *PCR technika* segítségével felszorzozható, szekvenciája meghatározható, majd összevethető. Kutatásainkban a *16S riboszómális RNS* valamint a *NADH-dehidrogenáz* enzim *ND1* alegységét vizsgáltuk. Vizsgálatainkhoz a primert nemzetközi adatbázisból választottuk, melyet közelrokon fajoknál már sikerrel alkalmaztak. Az alkalmazás során problémák merültek fel, ezért új, a meglévőnél megfelelőbb *primer* tervezését láttuk kívánatosnak. Ehhez a konkrétan vizsgálandó *mtDNS* szakaszt tartalmazó, de annál hosszabb fragmentet nyertünk ki, és szekvenáltattunk, majd a kapott szekvenciákat összehasonlítva egy olyan *primert* terveztünk, amellyel már nagyobb biztonsággal kinyerhető a megfelelő *DNS* szakasz minden vizsgált fajtól.

Kutatásaink kiterjedtek az *Isophya* fajok aktivitásának elemzésére is. Ezt egy 24 órás megfigyelés során valósítottuk meg. A vizsgálatba öt tarsza fajt vontunk be, 10-10 egyeddel. Eredményeink alapján a fajok késő esti- éjjeli aktivitásuk, viselkedés-mintázatukban különbségek mutathatók ki.

TERMÉSZETVÉDELMI BIOLÓGIA TAGOZAT

Különböző intenzitással kezelt mezőgazdasági területek biodiverzitásának összehasonlítása

Kovács Anikó

V. alkalmazott zoológus

SZIE ÁOTK Ökológia Tanszék

témavezető: Dr. Báldi András

konzulensek: Dr. Sóllymos Péter tudományos segédmunkatárs

Dr. Batáry Péter múzeológus

Az emberi tevékenységek közül a mezőgazdaság jelenti az egyik legnagyobb biodiverzitásra vonatkozó fenyegetést. A műtrágya és vegyszerfelhasználás intenzifikációja, valamint a táj homogenizációja Nyugat-Európában már súlyos természeti károkat okozott. A hazai extenzívebb kezelésnek köszönhetően az agrárterületek élővilága még őrzi gazdagságát, melynek megőrzése elsődleges feladat. Kutatásunk célja felmérni, hogy a fokozódó kezelési intenzitás, és a tájszerkezet hogyan hat a flóra és fauna alakulására az érintett területeken.

Megfigyeléseinkre és mintavételeinkre a Kiskunsági Nemzeti Parkban és környékén került sor 2005-ben. Hét különböző kezelési intenzitási típusú gabonaföldet választottunk, a műtrágyázás és vegyszerezés figyelembevételével. Intenzitásonként 3-3 területen végeztünk botanikai felmérést a táblák szélén, valamint az 50 méterrel beljebb kijelölt transzektek mentén, 10-10 kvadrátban. Ugyanezen transzektekben 2-2 talajcsapda és egy sárga vödör csapda kihelyezésére került sor, melyekkel májusban és júniusban futóbogarakat, pókokat és méheket gyűjtöttünk. A területeken áprilisban és májusban madármegfigyelést végeztünk az MME Mindennapi Madaraink Monitoringja program protokollja alapján.

A botanikai felvételezés során 151 növényfajt detektáltunk. A fajszáma a műtrágyázás, a borításra a gyomirtózás volt szignifikáns negatív hatással. A táblák szélén szignifikánsan több növény élt, mint a belső régióban. A tájszerkezet hatása pozitív. Csapdáink 150 pók, 80 Carabida és 95 méh fajt gyűjtöttek. A műtrágyázás a pókokra és méhekre negatívan, a futóbogarakra pozitívan hatott. A rovarölő-alkalmazás a pókok és méhek fajszáma, valamint a méhek egyedszáma szignifikánsan negatív hatást gyakorolt. A talajfelszínen mozgó csoportok esetében a gabonátáblák szélén magasabb faj- és egyedszámokat figyelhettünk meg, míg a méhek a táblák belsejében tartózkodtak nagyobb számban. A nem-szántóföldi területek növekvő aránya a pókok fajsámát és abundanciáját növelte, a futóbogarakét és méhekét csökkentette. A 28 megfigyelt madárfaj adatai alapján a műtrágyázás szignifikáns negatív hatású. A műtrágyák mennyiségének, valamint a vegyszerezések számának és a kapott termésátlagoknak összevetése során kiderült, hogy egy bizonyos dózis után a termésátlagok már nem növelhetők.

Elmondható tehát, hogy a műtrágyázás, és vegyszerhasználat jelentős negatív hatással lehet a művelt területek élővilágára, holott mindeközben a termésátlagokat nem növeli a várt mértékben.

TERMBIOL-2

Faállomány- és egyéb környezeti változók hatása a mohavegetációra az őrségi erdőkben

Márialigeti Sára

biológus (2007)

ELTE TTK Növényrendszertani és Ökológiai Tanszék

témavezető: Dr. Ódor Péter tudományos munkatárs

Munkánk során különböző faállományú erdők talaj- és holtfalakó mohavegetációját vizsgáltuk az Őrségi Nemzeti Park területén. Arra a kérdésre kerestük a választ, hogy az erdők fafajösszetétele, vertikális és horizontális szerkezete, újulata, a holtfa mennyisége, a fény- és aljzatviszonyok hogyan befolyásolják a mohaközösség és egyes mohacsoportok (pl. talajlakók, korhadéklakók, specialisták stb.) fajgazdagságát és borítását. Ezen kívül elemeztük a gyepter- és mohaszint kapcsolatát.

A faállomány térképezését és az egyes faegyedek mérését 40x40 m-es kvadrátokban végeztük. A moha mintavételezést ennek közepén elhelyezkedő 30x30 m-es kvadrátok teljes területét lefedve, több térfolyamati lépésben végeztük, 36 különböző területen. A talajon és a fekvő holtfán található valamennyi mohának abszolút borításbecslését végeztük el.

Eredményeink azt mutatják, az epifiton és epixyl mohacsoport borítását és diverzitását, valamint egyes fán élő fajok (*Hypnum cupressiforme*, *Lophocolea heterophylla*) borítását alapvetően a fekvő holtfa mennyisége határozza meg. A talajlakó mohák (pl. *Polytrichum formosum*, *Pleurozium schreberi*) tömegessége és fajgazdagsága tekintetében fontos tényező a lombos borítás (negatív hatás) és az ásványi talajfelszín jelenléte (pozitív hatás). E változókat nagymértékben meghatározza a faállomány: az állományalkotó lombos fafajok elegyaránya negatív, míg az erdőfenyő és különböző ritka lombos elegyfajok jelenléte pozitív összefüggést mutat a talajlakó mohavegetáció változóival.

Azt találtuk, hogy a gyepter- és mohaszint mind borítás, mind fajszám szempontjából erős pozitív korrelációt mutat egymással.

Vizsgálataink gyakorlati jelentősége, hogy ennek során kidolgozhatók olyan modellek, amelyek felhasználásával jósolhatóvá válnak a mohavegetáció biológiai változói a faállomány könnyen mérhető és általánosan használt jellemzői alapján. A modellezés folyamatából tesztelés céljára kihagyott mintaterületek esetében a kapott modellek viszonylag jól prediktálják a vizsgált változókat.

Erdőtársulások vizsgálata Külső-Somogy északi részén

Svéda Gergely

V. erdőmérnök

NYME EMK Növénytan Tanszék

konzulens: Dr. Király Gergely egyetemi docens

Dolgozatomban Külső-Somogy északkeleti részén végzett vegetációkutatás eredményeit foglaltam össze, melynek súlypontját az erdei ökoszisztémák vizsgálata alkotta. Az aktuális növényzetet a termőhely és a tájtörténet függvényében vizsgáltam és értékeltem. Igyekeztem a jelenlegi állapot és a fellépő hatások közti összefüggéseket felfedni. A dolgozat végül ajánlásokat tartalmaz az alkalmazandó erdőművelési irányelvekre, a tapasztalatok fényében.

Külső-Somogyon ezen a részén már korán elkezdődött az erdők kiélése. Jellemző volt az erdők általános leromlása, irtásföldökké alakítása. Az 1900-as évek elejétől a kezdeti szabad hasznosítást felváltotta a tudatos gazdálkodás, ami minőségi javulást eredményezett.

Jellemző talajképző kőzet a lösz, melyen a főleg barna erdőtalajok keletkeztek. A terület klímáját Walter-féle klímadigrammmal értékeltem, Siófok város adatai alapján. Eszerint erdősztyep klíma jellemző a vizsgálati területre. Az aktuális vegetáció azonban másról tanúskodik.

A legnagyobb arányban cseres-tölgyes állományokat találtam. Ezek széles dombháton, plakor helyzetben, vagy enyhe lejtésű oldalakon állnak. A csereseket vízellátottságuk alapján három további csoportba soroltam. Ehhez a cserjeszint és a gypszint fajösszetételének változását használtam.

Tipikus gyertyános tölgyesek nincsenek a területen, bár a völgyalji részeken biztosan jellemző lehetett ezek jelenléte. A magasabban fekvő jó termőhelyeken, pedig cseres-kocsánytalan tölgyesek lehettek jellemzők. Ma ezek „elgyertyánosodott” és „elkőrisesedett” változatait találjuk meg.

A molyhos tölgyes állományok a sekély termőrétegű, száraz termőhelyen állnak. Kialakulásuk edafikus okokra vezethető vissza. Fragmentális megjelenésűek és mindig csertölgygyel elegysek.

A balatonrendré határában lévő erdőtübről aktuális vegetáció térképet készítettem, amelynek kategóriarendszerét az előző csoportosítás alkotja. Az egyes vegetációs egységek pontosabb jellemzése érdekében cönológiai felvételeket is készítettem a jellemző foltokban.

Az erdőművelési feladatokat az egyes csoportokra külön-külön határoztam meg. Ehhez egy kizárólag helyi érvényű tipológiai rendszert állítottam össze, amely a gypszint és a cserjeszint fajösszetételére alapul. A legfontosabb feladatok közé tartozik az elegyesség megőrzése és a termőhelynek megfelelő állományok létrehozása.

TERMBIOL-4

Hangyaboglárka populációk felmérése egy bakonyaljai lápréten

Szijjártó Tamás

biológia tanár (2006)

BDF TTK Állattani Tanszék

témavezetők: Dr. Szinetár Csaba főiskolai tanár

Dr. Ambrus András Fertő-Hanság NP Igazgatósága

Dolgozatom célja a somlóvásárhelyi Holt-tó lápréten élő három hangyaboglárka (*Maculinea*) faj életének és viselkedésének bemutatása, valamint a populációk méretének becslése volt.

A terepmunka során a fajok egyedeit jelölés visszafogás módszerével vizsgáltam.

Dolgozatom adataiból jól látható, hogy az itt élő hangyaboglárka populáció több százas. A vérfű boglárkából sikerült a legtöbbet befognom és megjelölnöm, illetve belőle volt a legtöbb visszafogás is. A szürkés hangyaboglárkából valamivel kevesebbet sikerült befognom és jelentősen kisebb volt a visszafogási arányuk is. A zanótboglárka volt az, amelyikből a legkevesebbet fogtam és jelöltem meg. A három faj visszafogott egyedei közül a vérfű boglárka példányai voltak azok, amelyek a legnagyobb területeket vándorolták be a lápréten. Azért a másik két faj egyedei között is akadtak kis számban olyanok, melyek hosszabb utakat repültek be. Nemekre visszavezetve levonható a következtetés, hogy a legnagyobb területeket bejárt példányok kb. 70%-ban hímek, 30 %-ban nőstények.

Általánosan elmondható, hogy ezek a lepkék igyekeznek a korábbi tartózkodási helyeikhez közel maradni, nem szeretnek magasabb bokrokon, sásos állományokon átrepülni és ezáltal eltávolodni a kedvelt területektől.

A lepkék életkorát vizsgálva elmondható, hogy mindhárom fajnál az átlag életkor úgy négy nap körül mozog. A zanótboglárkánál a legidősebb egyed 9 napos volt, a vérfű boglárkánál 12 napos, míg a szürkés hangyaboglárka esetében találtam 13 napos egyedet is. A leghosszabb életkort megélt egyedek általában nőstények voltak, de ezt nagyobb visszafogási aránynál lehetne pontosabban megvizsgálni.

A három faj szépen megfér egymás mellett a lápréten. A zanótboglárka (*M. nausithous*) inkább a perifériákon található nagyobb számban és csak elvétve a rét középső területein. A vérfű boglárka (*M. teleius*) és a szürkés hangyaboglárka (*M.alcon*) vegyesen fordul elő a rét belsejében valamint a széleken is, de a perifériáktól beljebb eső részekben jóval nagyobb egyedszámban. A két faj aránya nagyjából megegyezik mindenhol, tehát sehol sem mondhattam azt, hogy egy bizonyos területen a kettő közül az egyik jelentős túlsúlyban volt a másikhoz képest.

A Somlóvásárhelyi Holt-tó értékes természeti kincsünk, mely intenzív védelemre és odafigyelésre szorul. Úgy gondolom, hogy az itt élő nagy számú védett növény és állatfaj miatt mindenképp helyet érdemelne a NATURA 2000-es területek között.

Újrakezdett kezelés hatása fokozottan védett kékperjés láprét földfelszín feletti vegetációjára, fitomasszájára és talajának magkészetére

Valkó Orsolya és Vida Enikő

IV. biológus; V. biológus

DE TTK Növénytani Tanszék

témavezetők: Dr. Matus Gábor egyetemi adjunktus

Török Péter Ph.D. hallgató

A fajgazdag nedves kaszálógyepek Európa szerte megritkultak, megmaradt állományaik létét beszántás, beépítés és intenzív tápanyagbevitel mellett a művelés felhagyása veszélyezteti, ami fajszegényedéshez és beerdősödéshez vezethet. Ezek a közösségek kiemelt kultúrtörténeti és természeti értéket képviselnek, számos ritka és védett faj élőhelyei.

A zempléni-hegységi fokozottan védett Gyertyánkúti-réteken 1993-ban dokumentált kezelési kísérlet indult. Ehhez a programhoz kapcsolódva a felújított kezelésnek (évi egyszeri, kézi kaszálás) a vegetációra illetve a talaj magkészetére gyakorolt hatását vizsgáltuk két mintegy 30 éve felhagyott *Junco-Molinion* állományban.

2004-ben parcellánként 20 db 1 m²-es kvadrátban felvettük a fajlistát és a fajonkénti virágzó hajtásszámokat. 2005 augusztusában, parcellánként 32 db 10×10 cm-es föld feletti fitomassza mintát vettünk. A mintákat szárítást (60°C, 24 óra) követően holt, fűnemű és dudvanemű frakciókra bonttuk. A fűneműeket *Molinia* és egyéb fűnemű kategóriákra, míg a dudvaneműeket fajokra válogattuk szét. A minták tömegét 0,01 g pontossággal mértük. A talaj magkészetét parcellánként 30 db, 10 cm mélységű áprilisban fűrt minta koncentrációt követő üvegházi csíráztatásával vizsgáltuk.

Az össz fajszám ($p < 0,01$), a virágzó kétszikűek fajsza ($p < 0,001$) és virágzó hajtássza ($p < 0,001$) magasabb volt a kaszált parcellákban. A *Molinia* és a legtöbb egyszikű virágzási sikere a kontroll területeken volt magasabb. A holt ($p < 0,001$), az egyszikű ($p < 0,01$) illetve a *Molinia* fitomassza mennyisége a kezelt területeken alacsonyabb volt ($p < 0,001$). A *Molinia* reprodukív sikere az összes dudvanemű virágzó hajtásszámaával és a virágzó dudvaneműek össz fajszámával erős negatív korrelációt mutatott ($p < 0,01$). A dudvaneműek faj- és fitomassza-eloszlása kiegyenlítettebb lett a kezelt területeken.

A magbankban domináns *Juncus conglomeratus* mellett jelentős mennyiségben csíráztak további egyszikűek (*Agrostis canina*, *Molinia arundinacea*, *Deschampsia cespitosa*). A vegetációban gyakori, természetes viszonyokat jelző fajok a magkészetben alárendeltek voltak. A kaszált kvadrátokban a *Molinia* magkészlete a kontrollnál ritkább ($p < 0,001$), míg a legtöbb domináns dudvaneműé sűrűbb volt.

Eredményeink igazolják, hogy a rendszeres kaszálás a *Molinia* virágzási sikerét és fitomasszáját csökkentve segíti faj- és virággazdagabb gyepek kialakítását és fenntartását. Megfelelő módszer lehet tehát a felhagyott, de még be nem erdősült hegyi kaszálórétek helyreállítására.

TERMBIOL-6

Tájtörténeti és vegetációdinamikai kutatások a Közép-Tisza vidéken

Varga Anna

IV. biológus

ELTE TTK Növényrendszertani és Ökológiai Tanszák

témavezető: Dr. Biró Mariann botanikus

konzulens: Dr. Ódor Péter posztdoktori ösztöndíjas

A Tisza-mente leginkább emberi hatások által befolyásolt területe a Közép-Tisza vidék.

Szolnok és Nagyrév, illetve Tiszavalk és Ároktő közötti Tisza szakasz hullámterének tájtörténetét vizsgálva az elmúlt 250 évet három nagyobb korszakra oszthatjuk:

1. Hagyományos tájhasználat tájidegen fajok nélkül (a 20. század közepéig);
2. Hagyományos tájhasználat tájidegen fajok jelenlétében (a 20. század közepétől az 1980-as évekig);
3. A hagyományos tájhasználat felhagyása tájidegen fajok jelenlétében (1980-as évek végétől).

A 20.század elejéig a rétek határozták meg a tájszerkezetét, a 30-as évek nagy területeket vontak szántóföldi művelésbe. Az 1970-80-as években kezdődött el, mind a kultúr, mind a természetes élőhelyeknek a használat alól való felhagyása, amely a mai napig megfigyelhető folyamat. A tájban a 19. századtól jelenlevő idegenhonos fajok terjedése és a tájhasználat alól felhagyott területek bozótosodása- beerdősülése jellemzi a mai tájat (az élőhelyfoltok 55%-a rosszul átjárható).

Tiszavalk és Ároktő közötti szakasz élőhelyfoltjainak elemzése alapján megállapítható, hogy a terület egykori vegetációja nem befolyásolja jelentősen a hullámtéri élőhelyek mai állapotát (természetesség, átjárhatóság, özönnövény fertőzöttség). A vizsgált szakasz élőhelyei hiába értékesek lokális szinten, mégis rossz állapotban vannak a táj özönnövénnyel való fertőzöttsége miatt. Az élőhelyek mai állapotát a tájhasználat intenzitása befolyásolja. A rendszeres tisztítás (kaszálás, legeltetés, tüzelő gyűjtés) megszűnése nem csak a rétek, fáskaszálók degradálódását jelenti, hanem az erdőkét is. A táj védelmének érdekében elsősorban az özönfajok a terjedését, illetve a hagyományos rétgazdálkodás hatására kialakult ártéri rétek, fáskaszálók megőrzését a hagyományos tájhasználatnak rendszerességét és folytonosságát szükséges biztosítani.

VISELKEDÉSÖKOLÓGIA TAGOZAT

VISÖKOL-1

Párörzési intenzitást befolyásoló tényezők vizsgálata a partifecskeknél

Icsó Diána

IV. biológia-környezetvédelem

NYF TTFK Környezettudományi Tanszék

témavezető: Dr. Szép Tibor főiskolai tanár

A telepesen fészkelő partifecske párválasztási és párörzési magatartását vizsgáltam a Felső-Tisza menti Gávavencsellő község közelében elhelyezkedő telepen, a 2004-ben készült részletes terepi felmérési adatok és a párválasztási időszakban készült videó felvételek elemzése alapján. A terepi adatbázis adatait és a videó felvételeket felhasználva, a párválasztást befolyásoló tényezőket próbáltam feltárni, arra vonatkozóan, hogy a hímek biometria paraméterei, ásási magatartásuk és a fészkelő üregük térbeli helyzete a telepen mennyiben befolyásolta a tojók döntéseit a párválasztás során. Munkámban a legtöbb figyelmet a párörzési magatartások vizsgálatára fordítottam, arra keresve a választ, hogy a hímek hogyan tudják apasági biztonságukat növelni illetve hogy a tojók milyen taktikákhoz folyamodhatnak a minél nagyobb reprodukciós siker elérése érdekében.

Vizsgálataim során arra az eredményre jutottam, hogy a hímek párbaállási sikerességét nagymértékben az üregásási sebességük illetve a telepen belüli fészekpozíciójuk határozza meg. A párkövetés hossza és a párbaállás ideje között szoros összefüggést találtam. Minél hamarabb állt párba a hím, annál kevesebbet követte a párját. A tojók érdekeltsége hímjük párörzés hatékonyságának csökkentésében felerősödött a később párbaálló pároknál. Munkám sokoldalú adatokkal szolgál a telep kialakulásában szerepet játszó, a párválasztással és párzással kapcsolatos magatartásokról.

VISÖKOL-2

A gyöngybagoly hím táplálékfordási aktivitásának jelentősége a fiókák felnevelésében

Inkeller Judit és Ábrahám Attila

V. biológus

PTE TTK Állatökológia Tanszék

témavezető: Dr. Horváth Győző egyetemi adjunktus

A PTE TTK Állatökológia Tanszékén 2003-ban kezdtünk meg a Dráva-menti síkság területén található gyöngybagoly párok költésének infrakamerás megfigyelését. A részletes elemzés céljából 4 különböző pár, illetve 6 költési időszak három ötnapos periódusát emeltük ki, mely periódusok időpontjait a fészkalj korának függvényében állapítottuk meg. A felvételek éjszakánként 12 órányi időt ölelnek fel, 19³⁰-as kezdéssel. Az egyes viselkedési minták definiálása után minden, a kamera látóterében történt öt másodpercnél hosszabb viselkedést feljegyeztünk. A gyöngybagoly táplálkozásökológiai vizsgálatának elvégzéséhez a fészkekhez hozott minden zsákmányt besoroltunk az alábbi öt kategóriába: *Arvicolidae*, *Murinae*, *Soricidae*, *Aves* és 'Egyéb'.

Az egyes költések, illetve hímek esetén a napi adatok, valamint a periódusokra összesített értékek alapján is teszteltük a hímek által hozott zsákmányállatok mennyiségi különbségét. A hímek költési sikeréhez hozzájáruló, egyre fokozódó zsákmányfordási aktivitását úgy is vizsgáltuk, hogy a kikelő fiókák száma és a hozott zsákmányállatok száma között regresszióanalízist végeztünk. Elvégeztük a kapott regressziós egyenletek meredekségének szignifikancia próbáját, ami a hímek vadászati ráfordításának eredményében megjelenő esetleges különbséget statisztikailag igazolta. Az egyes párok vagy költési időszakok regressziós egyenleteinek meredekségében nem kaptunk szignifikáns különbséget, tehát a vizsgált hímek hasonló ráfordítással növelték meg energia befektetésüket a sikeres költés érdekében. Elemeztük a hímek zsákmányhozással és zsákmányhozás nélküli megérkezésének arányát, illetve ennek különbségét a három elemzett költési periódus alapján. A hímek táplálékfordási viselkedését a sikeres éjszakai vadászatok időbeli mintázata alapján is értékeltük. Vizsgáltuk a hím által hozott zsákmánykategóriák megoszlását, amely során mind a különböző hímek, illetve költések, mind a különböző évekre összesített gyakorisági adatok különbségeit is elemeztük. A hímek zsákmányfordási mintázatát vadászati siker, illetve a szelektív predáció vonatkozásában is vizsgáltuk.

Eredményeink igazolták az a null-hipotézisünket, hogy a hím táplálékfordási aktivitása az inkubációs időszak után a kikelő fiókák energia igényének megfelelő mértékben növekszik, a fiókák felnevelésében a hím játssza a döntő szerepet.

VISÖKOL-3

A gyöngybagolytojó, *Tyto alba* (Scopoli, 1769) viselkedésmintázatának összehasonlító vizsgálata az inkubáció és a fiókák kikelése utáni időszakban

Kasza Orsolya

V. biológus

PTE TTK Állatökológia Tanszék

témavezető: Dr. Horváth Győző

A fokozottan védett gyöngybagoly tojó költésének inkubációs időszakában és a fiókák kikelése után zajló viselkedését vizsgáltuk éjszakai infrakamerás videofelvételek alapján. A gyöngybagolypárok viselkedésére vonatkozó felméréseket 2003-ban kezdtük el. Minden évben a tojások lerakásától a fiókák kikeléséig tartó időszakot VHS kazettára rögzítettünk, amelyekből három periódust választottunk ki a költés és fiókanevelés részletes elemzésére. Az első periódusban a tojó viselkedését tanulmányoztuk tojások jelenlétében, a második periódusban a tojások mellett már fiókák is jelen voltak, míg az utolsóban már minden tojás kikelt. A hat inkubációs időszakot tekintve 90 éjszakáról, 1080 óra folyamatos mintavételezésének adatait használtuk fel.

A három időszak alapján azt a kérdést tudtuk vizsgálni, hogy a korábbi tanulmányunkban kimutatott jelentős mennyiségű komfortmozgás milyen arányban vált át a fiókák irányába mutató, a fiókák túlélési esélyeit növelő komfortviselkedéssé. A költő párok viselkedésének összehasonlítása során vizsgáltuk a tojó szempontjából kiemelt viselkedési típusokat, elemeztük a viselkedési mintázatok arányát, hasonlóságát és különbségeit.

A korábbi előtanulmányunk alapján a tojónál a kotlás mellett jelentős viselkedés elem volt a köpetmorzsolgatás és az ezzel együtt járó, a fészkek és a fészkek közelében élő izeltlábuak irtása. Ennek alapján a több pár és a több költési periódus adatai felhasználásával azt a hipotézist vizsgáltuk, hogy ennek a viselkedési mintának a gyakorisága megnő a fiókák kikelésének időszakára, és nagyobb jelentősége van a keléstől számított időszakban, mint az inkubáció alatt. Feltételezésünk szerint ennek a szaporodási siker szempontjából az a jelentősége, hogy a tojó a köpetmorzsolgatással egybekötött, a fészkekben jelen lévő parazita vagy szaprofág izeltlábuak irtásával előkészíti a fészkaljat annak érdekében, hogy a kikelő fiókákat érő parazitáltság veszélye kisebb határfokú legyen.

A mindhárom időszakban mérhető komfortmozgásra, valamint a köpetmorzsolgatásra és szaprofág rovarok irtására fordított idő periódusokra vonatkozó mintázata független volt a költőpároktól, illetve a költési periódusoktól. Az inkubáció időszakához képest a köpetmorzsolgatásnak és a szaprofág rovarok pusztításának jelentősége megnőtt a második, illetve a harmadik időszakban, amit hat mintavételi periódus alapján a Kruskal-Wallis ANOVA tesztek igazoltak.

A vizsgálataink azt mutatták, hogy a gyöngybagoly tojó költési viselkedésében a köpetmorzsolgatás nem pótcselekvés, a fiókák kikelésének idejére fokozódó gyakorisága, illetve a tojónak erre a viselkedésre fordított megnövekedett ideje inkább a fiókák túlélési esélyeinek javítására irányuló szülői viselkedési elemként írható le.

VISÖKOL-4

A költési szezonon belüli diszperzió mintázata a függőcinegénél (*Remiz pendulinus*)

Kiss Orsolya

IV. biológus

SZTE TTK Ökológiai tanszék

témavezető: Dr. Szentirmai István zoológiai felügyelő

konzulens: Dr. Pénzes Zsolt egyetemi docens

A diszperzió során az egyed az optimális szaporodási feltételek érdekében vándorol át az egyik populációból a másikba. Az élőhelyek feldarabolódása miatt létrejövő metapopulációk között a diszperzió képes biztosítani a kapcsolatot. Ennek hiányában, pedig csökkenhet a populációk szaporodási sikere. A függőcinege különösen alkalmas a költési időszakon belüli diszperzió vizsgálatára, mivel mind a hím mind a tojó elhagyhatja a fészekaljzat a kotlás megkezdése előtt és újrapiárosodhat. A hímeknek akár hat, a tojóknak öt egymást követő párja is lehet egy költési időszakon belül. A dezertáló egyedek számára az újabb párokat részben a populációra bevándorló egyedek biztosíthatják. A jelen kutatásban a diszperzió okait és következményeit vizsgáltam a függőcinegén. A diszperzió vizsgálatára felhasznált adatokat a Függőcinege Kutatócsoport gyűjtötte a szegedi Fehér-tavon 2002-2004 között, valamint 2006-ban további öt populáció vizsgálatát végeztem abból a célból, hogy megtaláljam, honnan érkeznek, illetve hova vándorolnak ki a fehér-tavi egyedek.

Vizsgálataim adták az első tényleges bizonyítékot a területek közötti szezonon belüli diszperzióra. Az adatokat elemezve azt találtam, hogy a hímek diszperziós viselkedését több tényező is befolyásolja. A szezon előrehaladtával a hímek egyre nagyobb eséllyel hagyják el a populációt. Ugyanakkor nem találtam összefüggést az elvándorlás valószínűsége és a hímek újrapiárosodási lehetősége között, amit a szabad tojók számával, illetve a szabad tojók és hímek arányával jellemeztem. A tojók esetében az újrapiárosodási esélyek szintén nem voltak összefüggésben elvándorlásuk esélyével. A kivándorló tojók száma nőtt, a bevándorlóké viszont nem változott szignifikánsan a szezonnal. A diszperzió következményeivel kapcsolatban azt találtam, hogy befolyásolta a párnélküli hímek számát, ami növekedett a nettó hím bevándorlással, így a tojók pártalálási esélyeire is hatással volt. Eredményeim azt mutatják, hogy a hím függőcinegeknek feltehetően jobban megéri elvándorolni a költési időszak második felében. Ennek oka talán a hímek közötti kompetíció erősödése lehet, mivel a populációk mérete a szezon második felében éri el a maximumát. A tojók bevándorlása azonban nem volt hatással a hímek pártalálási esélyeire. Valószínűleg a tojók esetében a dezertálás a jelentősebb tényező. Tehát a hímek párosodási esélyeit tehát elsősorban a populációban folyó folyamatok befolyásolják. Kimutattam azt is, hogy a diszperzió valóban befolyásolja a pártalálási esélyeket a populációban, így annak mértéke várhatóan hatással van a populáció növekedési rátájára is.

VISÖKOL-5

A dolmányos varjú (*Corvus corax* L.) debreceni urbanizációja

Kövér László

III. természetvédelmi mérnök

DE MGK Természetvédelmi Állattani és Vadgazdálkodási Tanszék

témavezető: Dr. Juhász Lajos egyetemi docens

Dr. Gyüre Péter egyetemi tanársegéd

A madarak közeledése az emberi környezethez a civilizáció fejlődésével egyidejű. Az ember közelsége számos előnnyel is járt – táplálék, fészkelőhely, ragadozók elleni védelem – amely előnyök akár a faj számára jobban szolgálták a szaporodást, mint az emberi közelségből adódó hátrányok – zavarás, az ember környezetében élő ragadozók. A kultúrákövető fajok az elmúlt évszázadokban általánossá váltak, néhány faj pedig már természetközeli élőhelyen alig fordul elő (pl.: *Streptopelia decaocto*, *Passer domesticus*, *Galerida cristata*). Más fajok adaptációs képességük révén mind antropogén, mind természetes környezetben megjelennek. Egyes fajok az ember által kialakított területeket csak időszakosan keresik fel (pl.: téli időszak) kihasználva a kedvezőbb mikroklimatikus és táplálkozási lehetőségeket. A madarak urbanizációja hosszú folyamat eredménye. Napjainkban is számos olyan fajt ismerünk, amelyik életterét egyre inkább kiterjeszti a lakott területek felé. Földrajzilag is eltér néhány faj populációinak habitat áttörése. Nyugat-Európában számos faj (pl.: *Columba palumbus*, *Sturnus vulgaris*) legalább olyan gyakran jelenik meg városok környezetében, mint hazánkban a házi veréb. A dolmányos varjú (*Corvus cornix* L.) is ebbe a kategóriába sorolható. Egyes régiókban (pl.: Kelet-Európa számos települése) már évtizedek óta a lakott területek jellegzetes faja, Debrecenben azonban a tényleges városiasodása csak az utóbbi évtizedben tapasztalható, igaz a folyamat egyre szembetűnőbb.

Megfigyeléseimet a fajjal kapcsolatban az egész városra kiterjesztettem, de programszerűen elsősorban Debrecen északi városrészében végeztem, ahol az élőhelyi adottságoknak köszönhetően nagyobb számban lelt otthonra a faj városi populációjának számos példánya. A megfigyelések mellett 2006-ban a tavaszi aspektusban fészekfelmérést is végeztem, amelynek köszönhetően képet kaptam a fészekválasztási szokásaikról és a költési eredményekről is.

Fontos feladatnak tekintettem a faj urbanizációját kiváltó tényezők feltérképezését és azt, hogy városiasodásuk milyen hatással van a környezetben előforduló madárfajokra, a faj egyedeinek jelenléte természetvédelmi szempontból miképpen értékelhető. Az eddigi adatok alapján megállapítható, hogy a dolmányos varjú Debrecen egész területén általánosan előforduló, állandóan jelenlévő költőfajjá vált. A faj terjeszkedésével párhuzamosan jelentősen növekedett más fajok költési sikertelensége a varjak agresszív, csaknem a legtöbb általuk elérhető fészek predációja révén (pl.: *Turdus merula*, *Galerida cristata*, *Streptopelia decaocto*, *Carduelis carduelis*).

VISÖKOL-6

A papilloma vírusfertőzés kapcsolata színezeti jellegekkel házi verébnél

Kulcsár Anna

V. zoológus

SZIE ÁOTK Ökológia Tanszék

témavezető: Dr. Liker András egyetemi docens

konzulens: Schrott Anikó tudományos segédmunkatárs

A különböző típusú színezeti jellegek számos madárfajnál szexuális vagy szociális jelzésként funkcionálnak, azonban kevés esetben ismerjük a jelzések „őszinteségét” biztosító tényezőket. Míg a karotinoid alapú színezet kondíciófüggését több vizsgálat igazolta, a melanin alapú színek költségeiről keveset tudunk. Az egyik lehetséges mechanizmus a parazitáltsággal való összefüggés: ha a fertőzés gátolja az élénk színek kialakítását, a színezet megbízhatóan jelezheti az egyed egészségi állapotát vagy immunképességét.

E tanulmányban a melanin alapú színezet vírusfertőzöttséggel való összefüggését vizsgáltuk. A házi verebek (*Passer domesticus*) kétféle színezeti jelzését kutattuk. Egyrészt a csak hímek által fejlesztett eumelanin alapú, fekete begyfoltot, másrészt a hímeknél nagyrészt fehér (szerkezeti), kis részben feomelanin tartalmú, tojóknál teljes egészében feomelaninnal pigmentált szárnycsíkot. A hímek begyfoltja és szárnycsíkja a dominanciarang jelzésében játszik szerepet, valamint a begyfolt párválasztási jelzésként is funkcionál egyes populációkban. A tojók szárnycsíkjának funkciója jelenleg nem ismert.

Vizsgálatunkat a Veszprémi Állatkertben élő házi veréb populáción végeztük 2004-2005-ben. A vedlési időszakokban az egyedek egy részének lábán daganatszerű elváltozás (göb) volt észlelhető, amelyet az eddigi vizsgálatok alapján papilloma vírus okoz. A madarakat ősszel (szeptember-december) függönyhálójával fogtuk be, és a tünetek alapján fertőzött és tünetmentes kategóriákba soroltuk. A begyfolt területét vonalzóval mért szélességéből és magasságából becsültük. A madarak szárnyáról digitális fényképet készítettünk, melyről mértük a szárnycsík területét és a szárnyfedők színéhez viszonyított kontrasztosságát.

Eredményeink szerint az első vedlésükön átesett hím verebek között a papilloma fertőzés tüneteit mutató egyedek begyfoltja kisebb, és szárnycsíkja kevésbé kontrasztos mint az egészségeseké. Az első vedlésükön átesett tojók közt a göbös egyedeknek kevésbé feltűnő a szárnycsíkja, mint a tünetmenteseké. A szárnycsík mérete és a fertőzöttség között nem találtunk szignifikáns kapcsolatot. Ezen eredményeink arra utalnak, hogy házi verebeknél a melanin-alapú mintázatok jelezhetik az egyed fertőzöttségét.

VISÖKOL-7

A tollazat UV reflektanciája és a táplálkozás kapcsolata vízimadaraknál

Laczi Miklós és Cserepes T. Mihály

biológus (2006)

ELTE TTK Állatrendszertani és Ökológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Török János egyetemi docens

Dr. Michl Gábor megbízott előadó

A ragadozó fajok számára kulcsfontosságú tényező lehet, hogy mennyire tudnak rejtve maradni zsákmányuk előtt. Korábbi vizsgálatok kimutatták, hogy a halakat zsákmányoló vízimadarak világos hasoldali színezete adaptív jelleg, elősegítve az égboltba való beolvadást, zsákmányuk előtt való rejtőzést. Ezen vizsgálatok azonban többnyire csak a látható fény tartományára (400-700 nm) korlátozódtak. Mivel azonban az e szempontból vizsgált potenciális zsákmánynak számító halak többsége az UV tartomány egy részét is érzékeli (UV-érzékeny csap sejteik érzékenységi maximuma 360-365 nm-nél van, a szemük fénytörő közegei pedig átengedik az UV sugarakat), ezért az UV reflektancia nélküli hasoldali tollazat számukra élesen elűthet az égbolt UV háttérsugárzásától. Feltételeztük, hogy a vízimadaraknál a hasoldal UV visszaverése összefüggést mutat a táplálék típusával, illetve a zsákmányszerzés helyszínével. Méréseinket a Magyar Természettudományi Múzeum Állattárának Madárgyűjteményében végeztük. 70 faj összesen 103 egyedét mértük a hasoldal öt meghatározott pontján, mérési pontonként három ismétlést végezve. Mérőeszközként egy hordozható spektrofotométer szolgált. A felvett spektrumokon főkomponens analízist (PCA) végeztünk, amelynek az eredményeként kapott főkomponensek a GLM analízisek során erősen korreláltak a teljes intenzitással, UV intenzitással és relatív UV intenzitással. Az analízisek alapján a hlevők csoportjában magasabb intenzitást és UV intenzitást kaptunk, mint a más táplálkozású fajoknál, szignifikáns különbség azonban csupán a nyaki és mellkasi területen adódott. A relatív UV intenzitás értékek között a nem hlevő fajok közt az élőhely hatása bizonyult erősnek, a nyíltvízi fajok esetén tapasztaltunk magasabb relatív UV intenzitást. Ugyanakkor a filogenetikai kapcsolatok figyelembevételével végzett analízisekben egyetlen testtájon (a mellkas közepén) adódott különbség: a nyíltvízi fajoknál magasabb teljes és UV intenzitást kaptunk, mint a más élőhelyen táplálkozóknál. Eredményeink azt mutatják, hogy a zsákmányolás sikerességét is erősen módosíthatja a hasoldali tollazat színezete, bár más magyarázatok – mint a szexuális szelekció hatásai – is lehetségesek.

Tollazati szignálok és anyai hatás vizsgálata széncinegénél (*Parus major*)

Lakatos András

V. biológus

ELTE TTK Állattrendszertani és Ökológiai Tanszék

témavezető: Dr. Török János egyetemi docens

A tollazat színezetért felelős pigmentek (melanin és karotin) és struktúrák vizsgálata bizonyította, hogy a vizuális szignálok fontosak az egyedek rátermettségének kialakításában, így az anyai prenatális utódsegítésben. A tojó az utód rátermettségét születés előtt is befolyásolhatja azáltal, hogy a makrotápanyagok (lipidek, fehérjék) mellett különböző biológiailag aktív mikrotápanyagokat (pl. tesztoszteront, karotinokat, vitaminokat, immunglobulinokat) juttat a tojásokba. A segítségnek azonban költsége van, ezért nem minden egyed képes rá. A segítő viselkedést befolyásolhatja a környezet, a tojó és a pár hím minősége. A táplálékellátottság és a tojó kondíciója proximális kényszert jelent, míg a pár hím tulajdonságai alapján a tojó ultimális stratégiák szerint dönthet. Széncinegénél három fontos szignál (másodlagos nemi jelleg) szerepel az egyedek közötti kommunikációban. A hím fekete hassávja a szociális státusz jelzésére szolgál, hölgyválasznál és a hím-hím versengésnél szerepel. Kevésbé vizsgált a begytollak sárgasága, és eddig még nem vizsgálták a fejtető színezetének szerepét. 2006-ban a Pilis-hegységben szabadon élő széncinegepopulációban vizsgáltam a tollazati jelzések és a tojások minősége (mérete; sárgájának tömege; sárgája színezete, ami a karotin tartalomra utal) közötti kapcsolatot. 26 fészeknél mértük a szülők morfológiai és tollazati tulajdonságait és a fészekaljok első három tojását begyűjtöttük a természetvédelmi hatóságok engedélyével. Eredményeim szerint a hímek hassávja nem mutatott kapcsolatot a tojások minőségével. Valószínű, hogy a karotinbefektetés döntési helyzetében ez a szignál nem szerepel. Viszont azoknál a fészekaljknál, ahol a tojók sárgább színezetű hímekkel álltak párba, a tojások minősége jobb volt, színezete a magasabb karotintartalomra utalt. Ez azt mutatja, hogy a szaporodásba fordítandó karotinmennyiség szabályozásánál differenciális allokáció működik. A fejtető vizsgálata alapján úgy tűnik, hogy a széncinegénél asszortatív párba állás lehet a fejtető fekete színezete alapján. Ez az eddigi vizsgálatokhoz képest újszerű eredmény.

VISÖKOL-9

A fióka etetés intenzitását befolyásoló hatások vizsgálata egy partifecske telepen

Nagy Viktória

V. biológia-környezetvédelem

NYF TTFK Környezettudományi Tanszék

témavezető: Dr. Szép Tibor főiskolai tanár

A telepesen fészkelő partifecskenél 2004-ben a fiókaetelési időszakban rögzített videó felvételek részletes elemzése, valamint a részletes terepi felmérési adatok alapján vizsgáltam a szülő madarak fióka etetési magatartását. A befogások során egyedi festéssel ellátott fészektulajdonosokat a videó felvételen azonosítva mód nyílt ivaronként az átlagos óránkénti etetési szám, fészekben tartózkodási, illetve fészken kívül töltött idő, az ivarok egymáshoz viszonyított etetési részvétele közvetlen vizsgálatára, valamint az idegen egyedek fészek vizitjeinek feltárására. Munkámban arra kerestem a választ, hogy a hím, tojó, illetve párok egymáshoz viszonyított mérete, a párok párbaállási jellemzője, a fészek telepen belül elfoglalt helyzete, a fészkelő párok kora milyen mértékben befolyásolja az etetési intenzitást.

Vizsgálataim kimutatták, hogy a párok közötti méretbeli különbség közvetlenül befolyásolja az ivarok részvételét a fióka etetésben. Az idősebb tojók nagyobb etetési intenzitását találtam. Markáns különbség mutatkozott a különböző etetési intenzitással jellemezhető hímek telepen belüli pozícióját illetően. Az idegen madarak vizitjeinek gyakorisága a nagyobb szárnyú tojók fészkeinél volt többször megfigyelhető. A hímek párbaállási ideje és etetési intenzitása közötti pozitív kapcsolatot tártam fel. Vizsgálataim közvetlen információkkal szolgálnak a partifecske telepek kialakulása és működése közötti kapcsolatokról, és részletes adatokkal szolgálnak az etetési intenzitást befolyásoló tényezőkről.

A madarak ivóvíz higiéniai adaptációi

Oláh György

alkalmazott zoológus (2006)

SZIE ÁOTK Ökológiai Tanszék

témavezető: Dr. Rózsa Lajos

konzulens: Dr. Kis János tudományos munkatárs

Az ivóvízen keresztül a madarakat kórokozók fertőzhetik meg, melyek a vízbe került madár- vagy emlős ürülékből származhatnak. Emiatt az ürülék/vizelet szennyezett vizek felismerése és elkerülése adaptív előnyt jelenthet a madarak számára. Legjobb tudásom szerint az ivóvíz preferenciát és annak higiéniai következményeit ez idáig madaraknál nem tanulmányozták. Mivel a madarak ismertek ultraibolya (UV) tartományban való látásukról – melyet sok más dolog mellett táplálékszerzésre is felhasználnak – várható, hogy segítségével az ürülék/vizelet-szennyezett és tiszta vizet is képesek megkülönböztetni egymástól. Hipotézisem, hogy a madarak megállapíthatják az ivóvizük szennyezettségét az UV-reflexió segítségével és a nem szennyezett vizet preferálják.

Parlagi galambokat (*Columba livia* f. *domestica*) fogtunk Budapesten, egyedileg jelöltem, majd kültéri röpdékben vizsgáltam őket. A galambokon két kísérletet hajtottam végre. Az elsőben háromféle ivóvíz kategóriát kínáltam fel: (1) tiszta csapvizet, (2) vegytiszta hűgysavval szennyezett vizet (UV-abszorbens; a madár eredetű szennyezés szimulálására) és (3) karbamid oldatot (UV-reflektáns; az emlős eredetű szennyezés szimulálására), egyszerre mindig két ivóvíz kategóriát felkínálva. Feltételeztem, hogy a galambok detektálják a madár és emlős eredetű N-anyagszere végterméket UV-látásuk használatával. Várakozásommal ellentétben a galambok nem mutattak látható preferenciát a bináris választási tesztek során. Figyelembe véve minden egyes galamb választását, nem volt szignifikáns eltérés a kiindulási preferenciától (véletlenszerű választás) az idő függvényében sem.

A második kísérletben természetközeli ivóvizeket kínáltam fel: (1) tiszta csapvizet, (2) hőkezelt madár ürüléket, vízben elkeverve és (3) hőkezelt emlős ürüléket és vizeletet, vízben elkeverve, egyszerre ismét két-két ivóvíz kategóriát felkínálva. Ez esetben szignifikáns preferencia adódott mindkét szennyezett víz irányába a tiszta víz kontrollal szemben. A kétféle eredetű szennyezést nem különböztették meg egymástól.

Eredményeim nem támasztják alá hipotézisünket, miszerint a galambok ivóvíz preferenciájukat a víztestek N-anyagszere végtermékeinek tartalmára és ezáltal azok UV színére alapozzák. Talán a városi élőhelyek gazdag ivóvízforrásai miatt a városi galambok nem feltétlenül szelektálódtak a szennyezett ivóvizek elkerülésére. Továbbá, a N-anyagszere végtermékek helyett talán más nyomokat használnak az ürülék szennyezettség megállapítására.

VISÖKOL-11

A szaporodási siker és a színezet közötti kapcsolat vizsgálata hím házi verebeknél

Szórádi Alex

IV. kémia-környezettan

PE MK Analitikai-, Környezettudományi- és Limnológiai Intézet

témavezető: Dr. Liker András egyetemi docens

A madarak tollazata fontos a hőszigetelésben, aerodinamikai erőt biztosít a repüléshez, színe pedig a kommunikációban tölthet be jelentős szerepet. A hím házi verebek fekete torokfoltja és világos szárnycsíkja egyrészt "státusszimbólum", amelyek fontos szerepe van az egymás közti agresszív interakciókban, másrészt a torokfolt egyes populációkban a párválasztásban is szerepet játszik. A vizsgálatban arra kerestem a választ, hogy a torokfolt és a szárnycsík mérete, valamint a szárnycsík feltűnősége (környező tollakhoz viszonyított kontrasztossága) kapcsolatban van-e a hím verebek szaporodási sikerével.

A vizsgálatot a Veszprémi Állatkertben végeztem 2004-2006 között. A madarakat hálókkaal megfogtuk és alumínium- valamint színes műanyag gyűrűkkel jelöltük. Megfogáskor a hímekről fotókat készítettünk, amelyekről mértük a torokfolt- és a szárnycsík méretét és a szárnycsík kontrasztosságát. Mivel a verebek szinte egész életüket egy adott körzeten belül élnek, ezért az állatkertben gyűrűzött madarak életét nyomon lehet követni. A területen több, mint nyolcvan odú került kihelyezésre, amelyeket a madarak rövid időn belül elfoglaltak. 2005 és 2006 nyarán gyűrűkódjuk segítségével azonosítottuk az odúkban fészkelő hímeket, és a tojáshozástól a fiókák kirepüléséig követtük szaporodásukat. A fiókákat 10 napos korukban gyűrűt kaptak, valamint vért vettünk tőlük és testi jellemzőik (súly, csüd hossz) is rögzítésre kerültek.

Az elemzésekben a hímek színezeti tulajdonságait vettem össze szaporodási sikerükkel és fiókáik tulajdonságaival. 2005-ben pozitív kapcsolatot találtam a hímek begyfolt mérete és a fiókák tömege, illetve csüd hossza között. 2006-ban a szárnycsík kontrasztossága negatív összefüggést mutatott a fiókák tömegével. A többváltozós elemzések megerősítették, hogy a nagyobb torokfoltú hímek fiókái nagyobb méretűek voltak a kelés utáni 10. napon, mint a kis torokfoltú hímeké. A fiókák tömege és csüd hossza szignifikáns pozitív kapcsolatban volt a torokfolt méretével. Érdekes módon a fiókák mérete csökkent a hímek szárnycsík méretével.

A többi szaporodási siker változó (tojásszám, fiókaszám, kirepülési siker) esetén sem a hímek színezetével, sem a vizsgált egyéb magyarázó változókkal nem volt kimutatható kapcsolat.

A toll-lyukak eredete a füsti fecskén (*Hirundo rustica*) és más énekesmadarakon

Vas Zoltán

IV. biológus

ELTE TTK Anatómiai, Sejt- és Fejlődésbiológiai Tanszék

témavezetők: Dr. Csörgő Tibor egyetemi tanársegéd

Dr. Rózsa Lajos tudományos főmunkatárs

15 évvel ezelőtt karakterisztikus lyukakat írtak le a füsti fecskék evező- és faroktollain. A lyukak száma és a tolltetű fertőzöttség közti korrelációra alapozva megállapították, hogy a lyukakat a *Machaerilaemus malleus* nevű tolltetű rágja. Azóta számos evolúciós ökológiai, gazda-parazita viszonyt tárgyaló publikáció íródott ezen a feltételezésen alapulva, azonban a toll-lyukak eredetét senki sem tesztelte. Vizsgálatunk célja annak megállapítása volt, hogy valóban a *Machaerilaemus malleus* felelős-e a lyukakért? Kétségünket elsősorban az indokolta, hogy az irodalmi adatok szerint ez a tetűfaj rendkívül ritka Európában, míg a toll-lyukak prevalenciája a füsti fecskéken igen magas. Hasonló toll-lyukakat leírtak a házi verébről, illetve más olyan madarakról, amelyek nem *Machaerilaemus*- gazdák. A *Machaerilaemus malleus* nagy testű, ovális alakú, testalkata látszólagosan nem az evezők és faroktollak aerodinamikai felszínén való tartózkodáshoz adaptálódott, valamit életmódja és táplálkozásbiológiája is nehezen egyeztethető össze a toll-lyukakkal. A vizsgált madarakat az Ócsai Madárvártán fogtuk. A tolltetveket a tollazat vegyszeres kezelésével gyűjtöttük. A *Machaerilaemus malleus* ezen gyűjtési módszerrel is igen ritkának bizonyult a füsti fecskén, azonban a *Brueelia domestica* prevalenciája füsti fecskén jóval magasabb, mint a korábbi irodalom szerint, hagyományos gyűjtési módszerrel. Énekesmadár fajok közti összehasonlításban a toll-lyukak prezenciája illetve abszenciája jól egyezik a *Brueelia* fajok prezenciájával illetve abszenciájával az adott gazdákon. Végeredményként csak abban érthetünk egyet a korábbi munkák eredményeivel, hogy a toll-lyukak tetvek rágásnyomai, de a füsti fecskén a *Brueelia domestica*, más énekesmadarakon pedig más *Brueelia* fajok okozzák a rágásnyomokat.

Névmutató

- Ábrahám Attila 325
 Ács Norbert 95
 Ács Péter 142
 Adamkó Andrea 284
 Ágoston Nikolett 44
 Ágyi Ákos 129
 Ambrus Csilla 81
 Amrein Krisztina 203
 Angeli Vivien 274
 Angyal Dorottya 287
 Antal László 297
 Ashaber Mária 107
 Asztalos Emese 204
 Bajó Róbert 257
 Bakondi Beatrix 45
 Balázs Anita 180
 Bálint Diána 298
 Balogh Tímea 205
 Bánsághi Száva 69
 Baráth Mónika 160
 Barki Márta 299
 Barnucz Erika 140
 Bátori Róbert Károly 275
 Bereczki Csaba 141
 Berger Ágoston 215
 Biró Marianna 256
 Biró Petra 130
 Blskó Andrea 161
 Bodnár Andrea 151
 Bogyó Dávid 285
 Bokor Veronika 265
 Boldizsár Ákos 247
 Boldizsár Edit 227
 Boros Melinda 315
 Bozsóki Zoltán 310
 Czimmerer Zsolt 192
 Csatári István 46
 Cselényi Levente 47
 Cseppentő Tamás 198
 Cserepes T. Mihály 330
 Cseri András 82
 Csoknya Julianna 181
 Csomor Péter 191, 194
 Csóri Zsuzsanna 152
 Csóti István 248
 Csörgő Bálint 170
 Dányi István 206
 Dolowschiák Tamás 83
 Dombrádi Zsuzsanna 171
 Domina Eszter Mária 131
 Dudás Réka 300
 Dudok Barna 217
 Ecsedi Szilvia 116
 Emmert Dominika 162
 Erdei Éva 84
 Erdélyi Péter 117
 Fanaczán Anikó 286
 Faragó Nóra 193
 Faragó Tamás 108
 Farkas Anita 70, 85
 Fazekas Erika 86
 Finta Ágnes 96
 Franciszti László 276
 Fráter Edit 62
 Futosi Krisztina 277
 Fülöp Szabina 118
 Gál László 48
 Galambos Anikó 97, 247
 Gardlik, Roman 196
 Gavalda Kinga 109
 Gedai Anita Judit 119
 Gibert Kristóf 218
 Gonda Sándor 239
 Gulyás András 142
 Gulyás Eszter 287
 Gunszt Dóra 301
 Gyarmati Mariann 132
 Gyöngyösi Eszter 172, 191
 György Ágnes Irma 143
 Győri Edit 207
 Gyulai István 133
 Hajla Sándor 87
 Hambalkó Szabolcs 208
 Hangya Balázs, Dr. 216
 Harkai Anikó 288
 Harza Irén 228
 Havas Enikő 289
 Heéger Zsófia 173
 Héja Dávid 88
 Hévízi Gergely 308
 Hodosy, Július 196
 Hodula Orsolya 49
 Horgosi Szabina 240
 Hornyák Gábor 153
 Horváth András 209
 Horváth Eszter 182
 Horváth János 229
 Huliák Ildikó 71
 Icsó Diána 324
 Iglói Zsófia 98
 Inkeller Judit 325
 Jámber Éva 154
 Jámbrík Katalin 241
 Janzsó Gábor 63
 Janzsó Gréta 302
 Jeneiné Barta Krisztina 174
 Jipa András 120
 Juhász Edit 311
 Juhász Ildikó 89
 Juhász István 144
 Juhász László 52
 Kalapos Balázs 64
 Kalmár Attila 145, 146
 Kara Edina 110
 Kardos Emőke 45
 Kasza Ágnes 230
 Kasza Orsolya 326
 Katona Krisztina 134
 Kecő Klára 147
 Kékesi Orsolya 53
 Kéki Zsuzsa 183
 Kelemen Kristóf 258
 Kemencei Zita 111
 Kerényi-Nagy Viktor 242
 Kéri Enikő 112, 155
 Király Erika 99
 Kis Petra 249
 Kisfali Máté 290
 Kiss Alexa 278
 Kiss Attila 52
 Kiss Bence 184
 Kiss Gabriella 100
 Kiss Orsolya 327
 Kiss Zsófia 250
 Komlósi Gergely 219
 Koncz Gábor 266
 Koncz Péter 259
 Kónya Viktória 163
 Kovács Anikó 317
 Kovács Enikő 147
 Kovács Levente 120, 121
 Kovács Szilvia 312
 Kovács Tibor 122
 Köröskényi Krisztina 279
 Kőszegi Zsombor 54
 Kövér László 328
 Krizsán Krisztina 185
 Kucs Piroška 267
 Kucserka Tamás 148
 Kukléta Károly 149
 Kulcsár Anna 329
 Kutnyánszky Vera 313
 Kutsch Edit 101
 Laborczí Annamária 268
 Laczi Miklós 330
 Lakatos András 331
 László Brigitta 172, 194
 László Márta 112
 Lengyel Attila 269
 Lengyel Gábor Dániel 291
 Lenkey Nóra 231
 Lévai Réka 175
 Linka Beáta 176
 Mag Zsuzsa 303
 Majláth Imre 270