

DIALÓG CAMPUS TANKÖNYVEK

**Bíró – Hornok – Kevei – Kucséra –
Maráz – Pesti – Szűcs – Vágvolgyi**

ÁLTALÁNOS MIKROBIOLÓGIA



**Szerkesztette:
Pesti Miklós**



DIALÓG CAMPUS KIADÓ ❖ Budapest–Pécs, 2001

A kötet az Oktatási Minisztérium támogatásával,
a Felsőoktatási Pályázatok Inrodája által lebonyolított
felsőoktatási tankönyvtámogatási program keretében jelent meg.

Lektorálták:

Deák Tibor

Sipicki Mátyás

© Dialóg Campus Kiadó, 2000.
© Biró Sándor és szerzőtársai, 2000.

A mű szerzői jogilag védett. Minden jog, így különösen a sokszorosítás, terjesztés
és fordítás joga fenntartva. A mű a kiadó írásbeli hozzájárulása nélkül részeiben
sem reprodukálható, elektronikus rendszerek felhasználásával nem dolgozható fel,
azokban nem tárolható, azokkal nem sokszorosítható és nem terjeszthető.

TARTALOM

ELŐSZÓ	9
1. TÖRTÉNETI ÁTTEKINTÉS (Kecvi Ferenc–Kucsera Judit)	11
2. A MIKROORGANIZMUSOK RENDSZEREZÉSÉNEK ALAPELVEI (Vágvölgyi Csaba)	19
2.1. A mikroorganizmusok rendszerezésének jelentősége és alapelvei	21
2.2. A vírusok rendszerezése	22
2.2.1. A vírusok rendszerezésének alapelvei	22
2.3. Prokarioták rendszerezése	24
2.3.1. Prokarioták rendszerezésének alapelvei	24
2.3.2. A baktériumok nevezéktana	24
2.3.3. A baktériumok rendszerezésére használt hagyományos eljárások	24
2.3.4. Kemotaxonómiai és molekuláris taxonómiai módszerek a bakteriológiában	25
2.4. A gombák rendszerezése	26
2.4.1. A gombák rendszerezésének alapelvei	26
2.4.2. A gombák nevezéktana	26
2.4.3. A gombák rendszerezésére használt hagyományos eljárások	27
2.4.4. Kemotaxonómiai módszerek	27
2.4.5. Molekuláris taxonómiai módszerek	28
3. VÍRUSOK (Szűcs György)	39
3.1. Alapfogalmak	41
3.2. A vírusok evolúciós eredete	41
3.3. Virionok felépítése, szerkezete, morfológiája	41
3.3.1. Virionok csoportosítása szerkezetük és szimmetria-viszonyuk alapján	42
3.3.2. Virionok molekuláris felépítése	44
3.4. Vírusmultiplikáció, a vírusfertőzés lefolyása	46
3.5. A vírusok genetikája (A vírusok kölcsönhatásai. Interferencia)	48
3.6. A vírusok tenyésztése	50
3.7. Virionok kimutatása. A vírusok mennyiségi meghatározása	52
3.8. A virionok tisztítása	53
3.9. Vírusok rendszerezése	54
3.10. Bakteriofágok	55
3.11. Tumóvírusok, onkogének	56
3.12. Szubvirális ágensek	59

3.13. A gazdaszervezet védelmi mechanizmusai. Interferonok	61
3.14. Vírusok elleni aktív és passzív védekezés	63
4. PROKARIÓTÁK (Biró Sándor)	67
4.1. A prokarióta sejt általános jellemzése	69
4.1.1. A baktériumsejtek mérete, és fénymikroszkópos morfológiája	69
4.2. A prokarióták felszínének szerkezete	71
4.2.1. Flagellumok	71
4.2.2. Pilusok és fimbrák	72
4.2.3. A glikokalix	73
4.3. A sejtfal	74
4.3.1. Az eubaktériumok sejtfala: a Gram-pozitív (G+) és Gram-negatív (G-) sejtfal	76
4.3.2. A Gram-festés	79
4.3.3. Az Archaeobacteriumok sejtfala	81
4.4. A sejtmembrán szerkezete és funkciói	81
4.4.1. Az eubaktériumok membránja	81
4.4.2. Az ósbaktériumok membránja	82
4.5. A citoplazma és a maganyag szerkezete és funkciói	82
4.5.1. A citoplazma szerkezete	82
4.5.2. A baktériumok genetikai anyagának szerkezete	82
4.5.3. A riboszómák	83
4.6. Speciális prokarióta organelumok szerkezete és funkciói	83
4.7. Tápanyagok felhalmozása a citoplazmában	84
4.8. A baktériumok spóráképzése	85
4.8.1. Endospóráképzés	85
4.8.2. Exospóráképzés	85
4.9. A legfontosabb baktériumok rövid leírása	87
4.9.1. I. divízió: Gracilicutes (Gram-negatív baktériumok)	87
4.9.2. II. divízió: Firmicutes (Gram-pozitív baktériumok)	101
4.9.3. III. Divízió: Tenerricutes	111
4.9.4. IV. Divízió: Mendosicutes	112
5. EUKARIÓTA MIKROORGANIZMUSOK (Maráz Anna)	117
5.1. Az eukarióta sejtek felépítése és működése	119
5.1.1. A citoplazma-membrán	122
5.1.2. A sejtfal	123
5.1.3. Az eukarióta sejtek mozgásszervei	124
5.1.4. A tok és a fimbria	126
5.1.5. A citoplazma és a citoskeleton	126
5.1.6. A citoplazma belső membránrendszere	127
5.1.7. A sejtmag	130
5.1.8. A mitokondrium	134
5.1.9. A kloroplasztisz	136

5.2. Az eukarióta mikroorganizmusok jellemzése és főbb csoportjai	137
5.2.1. Az eukarióta mikroorganizmusok helye az élőlények rendszerében	137
5.2.2. A gombák országa (Regnum Fungi/Mycota)	138
5.2.3. A Nyálkagombák országa (Regnum Myxomycota)	157
5.2.4. Az Algák országa (Regnum Algae)	158
5.2.5. A protozoonok országa (Regnum Protozoa)	161
6. MIKROORGANIZMUSOK ENERGIANYERÉSE	165
(Kevei Ferenc - Kucséra Judit)	
6.1. Mikroorganizmusok tápanyagigénye	167
6.2. Mikrobiális energianyerő folyamatok	175
6.2.1. Autotróf energianyerés, anyaghasznosítás	175
6.2.2. Heterotróf - kemoorganotróf - energianyerés	183
7. A MIKROORGANIZMUSOK GENETIKÁJA (Homok László)	201
7.1. Genetikai alapismeretek	203
7.1.1. A DNS felépítése, replikációja	204
7.1.2. Transzkripció és transláció	206
7.1.3. A fehérjeszintézis genetikai szabályozása	209
7.2. A mikroorganizmusok genetikai változékonysága	211
7.2.1. Mutációk és egyéb vertikális irányú változások a genomban	211
7.2.2. Genetikai információ átvitele mikroorganizmusok között (Horizontális génátvitel)	219
8. A MIKROORGANIZMUSOK MINT KÓROKOZÓK	227
(Homok László)	
8.1. Alapfogalmak	229
8.2. Baktériumok patogenitása	233
8.2.1. Magasabb rendű állatokra és az emberre patogén baktériumok	233
8.2.2. Növénykórokozó baktériumok	236
8.3. Gombák patogenitása	239
8.3.1. Humánpatogén gombák	239
8.3.2. Növénykórokozó gombák	242
9. ANTIMIKROBIÁLIS ANYAGOK (Pesti Miklós)	249
9.1. Szaporodásgátlás típusai, hatásmód, hatásspektrum	251
9.2. Analitikai mikrobiológia alapjai	253
9.3. Virusellenes vegyületek	254
9.4. Baktériumellenes vegyületek	255
9.5. Szintetikus baktériumellenes vegyületek	256
9.6. Antibakteriális antibiotikumok	257
9.7. A fehérjeszintézist gátló antibiotikumok	258
9.8. Tetraciklin antibiotikumok	259

9.9. Néhány jelentősebb antibakteriális vegyület	259
9.10. Gombaellenes vegyületek	260
9.11. Antimikrobiális anyagokkal szembeni rezisztencia	262
10. MIKROBIÁLIS BIOTECHNOLÓGIA (Maráz Anna)	265
10.1. A génszűrés alapjai, molekuláris klónozás	267
10.1.1. A molekuláris klónozás	267
10.1.2. A klónozáshoz használt nukleinsavak izolálása, előállítása	268
10.1.3. A rekombináns DNS in vitro előállítása	270
10.1.4. Klónozó vektorok	270
10.1.5. A rekombináns DNS bejuttatása a gazdasejtbe	275
10.1.6. Géntárak, klóntárak	276
10.1.7. A megfelelő klón kimutatása, izolálása	276
10.1.8. A génkifejeződés feltételei	277
10.1.9. In vitro és célzott mutagenézis	278
10.1.10. A fehérje szerkezetének megváltoztatása a kódoló gén célzott mutagenézisével: fehérjemérnökség (protein engineering)	278
10.2. A génszűrés gyakorlati alkalmazása	281
11. MIKROORGANIZMUSOK GAZDASÁGI JELENTŐSÉGE (Bíró Sándor)	285
11.1. Élesztőket hasznosító hagyományos mikrobiológiai eljárások	287
11.1.1. Borászat	287
11.1.2. Sörgyártás	288
11.1.3. Kenyérgyártás	289
11.2. Ecetsav-baktériumokat hasznosító hagyományos mikrobiológiai eljárások	290
11.2.1. Ecetgyártás	290
11.2.2. Egyéb ecetsav-baktériumok által előállított termékek	290
11.3. Tejsavbaktériumok alkalmazása	290
11.3.1. Tejtermékek (sajt, kefir, joghurt) előállítása	290
11.3.2. Savanyúságok készítése és zöldség- és gyümölcsök silózása	291
11.3.3. Húskészítmények tartósítása	292
11.3.4. Dextrán és más poliszacharidok termelése	292
11.4. Vajsavbaktériumokat hasznosító mikrobiológiai eljárások	293
11.4.1. Áztatási eljárások	293
11.4.2. Aceton-butanol fermentáció	293
11.5. Mikrobák mint fehérje- és aminosavforrások	294
11.5.1. Egysejtfehérje-előállítás	294
11.5.2. Aminosavak előállítása	295
11.6. Egyéb mikrobákat hasznosító eljárások	295
AJÁNLOTT IRODALOM	297
TÁRGYMUTATÓ	299

ELŐSZÓ



A tankönyv a természettudományi karok és agrártudományi egyetemek, főiskolák hallgatói számára készült. Tömör, néha vázlatszerű tömörséggel megírt törzsanyag, amely segíti a hallgatók felkészülését, ugyanakkor lehetővé teszi az előadók számára, hogy száraz adatközlés helyett a lényegi összefüggéseket tárgyalják előadásokon és kitérhesse a legújabb kutatási eredményekre is. Ez az ismeretanyag szándékaink szerint elégséges alapot szolgáltat a mikrobiológiai alapkurzusokra épülő növénykórtani, közegészségügyi, immunológiai, környezetvédelmi és mikrobiális ökológiai kollégiumokhoz.

Kérjük az olvasót, hogy a változó társadalmi igényeket jobban szolgáló, egyre sokszínűbb felsőoktatási rendszerünk céljainak megfelelőbb, javított kiadást észrevételeikkel segítsék.

A szerzők ezúttal mondanak köszönetet a lektoroknak és minden kollégának, akik tanácsaikkal segítették a tankönyv megjelenését.

A szerzők

KEVEI FERENC-KUCSERA JUDIT

1. TÖRTÉNETI ÁTTEKINTÉS



A mikrobiológia a mikroszervezetek biológiája, rendkívül heterogén ismeretanyagot felölelő szakterület. Önálló diszciplínává válását nem vizsgálati objektumainak mérettartománya (kicsinyége), hanem vizsgálati módszere tette szükségessé. A mikroszervezetek generációs ideje rövid, nagy egyedszámú populációik gyorsan, dinamikusán változnak, tanulmányozásuknál e sajátosságukat szem előtt kell tartani. Vizsgálatukból levont következtetések statisztikus átlag állapotokat jellemeznek.

Az ember ősidők óta együtt él a mikroorganizmusokkal – szenvedte kór-, illetve károsításukat, élvezte, hasznosította tevékenységük eredményét – anélkül, hogy létezésükről tudott volna.

Kezdetben a fertőző betegségeket – nem ismerve azok okát – nem tudták megkülönböztetni a mérgezésektől, ebből ered például a vírus (mérge) fogalom. A korabeli gondolkodók között voltak olyanok, akik kissé misztikus megfogalmazással „miazmákról” beszéltek, eme láthatatlan élőlényeknek tulajdonították a fertőzések eredetét. Egyesek szerint ezek a légző utakon keresztül jutottak be a szervezetbe, mintegy megsejtve azt, hogy ez a kórfolyamat kialakulásának előfeltétele. Azt a tényt, hogy a fertőzés a levegővel terjedhet, a malária (rossz levegő) betegség neve örökítette meg. Azt, hogy a mérgezés és a fertőző betegség különbözik kiváltó okában is, már a római **Lucretius** feltételezte az i.e. I. században. **Girolamo Fracastoro** itáliai orvos (1483–1553) továbbmenve, a fertőzések eredetét szabad szemmel láthatatlan élőlényeknek tulajdonította, amelyek a levegővel, vagy kontakt érintkezés útján terjednek.

A mikroszervezetekhez hasznuk oldaláról közelítve ismeretes az, hogy az emberiség évezredek óta fogyaszt mikrobák tevékenysége során létrejött termékeket. Alapvető táplálékunk a kenyér, mikrobiális erjedés nélkül elképzelhetetlen, fogyasztása ősi időkre vezethető vissza (a „kovász” oltóanyagként való használatát, fenntartását elődeink kiváló szakértelemmel végezték, mit sem tudva olyan mikroszervezetekről mint élesztőgombák vagy tejsavbaktériumok). A tejtermékek készítése is nagyon korán kialakult, az alkoholtartalmú italok előállítására is több ezer éves múltra tekint vissza, ókori kőbevésett emlékek tanúsága szerint. Ma, amikor divatszerűen biotechnológiáról (az élő szervezetek célszerű, produktív célra történő felhasználásáról) beszélünk, kezdetként ezekhez a példákhoz nyúlunk vissza.

Ismeretes az a tény, hogy egyes növényi és állati eredetű táplálékfélések, illetve használati tárgyak, eszközök eltarthatóságát (azaz konzerválását, korhadástól, rothadástól, egyéb mikrobiológiai eredetű kártételtől való megóvását) őseink kitűnő érzékkel oldották meg. Gondolhatunk itt a hús szárítással vagy füstöléssel való tartósítására, gyümölcsaszalásra, különböző növényi termékek savanyítással való tartósítására (bizonyos értelemben a tejtermék-előállítások is ezt a célt szolgálták), de a bőr- vagy fatárgyak, eszközök romlástól való megóvása is gazdag tapasztalati ismeretanyagot alapult.

A mikrobák tudatos megismerését a mikroszkóp felfedezése tette lehetővé. Csillagászati célokra készített lencsefelékkel izellábuakon morfológiai megfigyeléseket már korábban is végeztek, mikrobákat először azonban **Antonle van Leeuwenhoek** (1632–1723) amatőr biológus látott a mai mikroszkópok őseként számon tartott egyszerű optikai eszközével. Baktériumokról, mikroszkópos gombákról készített rajzait a brit Royal Society korabeli kiadványa őrizte meg. A mikroszkóp alkalmazásával gazdagodó morfológiai ismeretanyag mellett a mikrobiológia fejlődését sajátos módon segítette az ősnemzés tanának (spontaneous generation) hirdetői és tagadói között dúló vita. Az elmélet, amely az ókori gondolkodó óriás **Arisztotelész** téves megfigyeléseiből eredt, megfelelt a középkori skolasztikus iskolák tanításának, a vallási dogmáknak, a XVIII. századra viszont bizonyítékok híján a mikroszervezetek világára szorult vissza. **Lazzaro Spallanzani** (1729–1799) mikroszkópos preparátumban megfigyelte, hogy a baktériumtömeg a táplevesben egy sejtből kiindulva jön létre (germ theory), azt is bizonyította, hogy a kiforralt táplevesben nem indul meg a baktériumok szaporodása, ha a táptalajt tartalmazó edényt a forralást követően leforrasztotta. A spontán nemzódés tanát hirdető különböző külső tényezők okozta változásokkal (pl. a megváltozott levegő nyomása) magyarázták, hogy a kísérleti bizonyítékok ellenük szólnak. Utóvédharcukat segítette kísérletező ellenfelek alkalmi pontatlansága, és a kor technikai színvonala. E tudománytalan elmélet teljes cáfolatát **Pasteur** és néhány kortársának munkássága adta meg.

Louis Pasteur (1822–1895) széles körű, zseniális megoldásokkal (időnként páratlan szerencsével társuló eredményes kísérleteivel) tarkított pályája egyet jelent a modern mikrobiológia tudomány, a kísérletes mikrobiológia megalapozásával. Felfedezéseinek, alapvető megállapításainak néhány példája:

- a nevet őrző lombiktipussal lefolytatott sterilizációs és tenyésztési kísérletekkel cáfolta az ősnemzés tanát,
- felismerte az optikai izoméria biológiai jelentőségét, a mikroszervezetek ez irányú szelektív tápanyag-hasznosítási képességét,
- tanulmányozta az erjedési folyamatokat, felfedezi az anaerobiózist,
- „borbetegségek” megelőzésére bevezette a később róla elnevezett pasztörözést,
- felismerte a selyemhernyó mikrobák okozta betegségeit,
- felfedezte a baktériumspórák extrém hőtűrését, ellenállóképességét,
- több állati fertőző betegség kórokozóját, kórfolyamatát tanulmányozta, írta le, közülük a legismertebbek a lépfene és a sertésorbáncsal kapcsolatos tanulmányai,
- felismerte, hogy az idős tenyészetek fertőzőképessége csökken, ezek immunitázásra alkalmazhatók,
- alapvető tisztázó és a gyógyítást megalapozó eredményt ért el a veszettség kórokozójával, kórfolyamatával kapcsolatban.

Ezen utóbbi munkája során a mikroszkópos mérettartománynál kisebb kórokozót feltételezett a gyógyító eljárásában az **Edward Jenner** által felfedezett (1798), a himlő vírusával kapcsolatban alkalmazott vakcinálás (az aktív immunizációs eljárások őse) elvét követve.

A XIX. század másik nagy felfedezője, kutatója, akinek munkássága mérföldkő a mikrobiológiában, **Robert Koch** (1843–1910) volt. Széles skálájú kutatási eredményeiből az alábbiak emelhetők ki:

- a zselatin alkalmazásával elsőként vezette be a szilárd táptalaj használatát a mikrobiológiai munkák során, lehetővé téve az egyszerű tisztatenyészet készítést,
- tökéletesítette a mikroszkópozás technikáját a kondenzor és immerzió bevezetésével,
- mikrotechnikai (festési) eljárásokat dolgozott ki baktériumok azonosítására
- megcáfolta a pleomorfizmus elméletét (miszerint a különféle baktériumok a környezeti tényezők hatására létrejövő variációk),
- felfedezte a kolera és a tuberkulózis (tbc) kórokozóját, számos más mikroorganizmus okozta humán és állatbetegség kérdésével foglalkozott,
- kísérletekkel bizonyította a baktériumok kórokozóképességét, tisztázta a fertőzési folyamatok mikéntjét.

Ez utóbbi tevékenysége révén születtek meg az ún. Koch-féle posztulátumok:

- 1.) A fertőző beteg szervezetből a kórokozó mikroorganizmus minden esetben kitenyészthető, az egészségesben azonban nincs jelen.
- 2.) Az izolált mikroorganizmus tiszta tenyészetben fenntartható.
- 3.) Az így fenntartott mikroorganizmussal az egészséges szervezet újra betegíthető.
- 4.) Az előzőleg izolált mikroorganizmussal azonos kórokozó ismét kitenyészthető a mesterségesen fertőzött szervezetből.

Koch századfordulón átívelő pályáját méltán koronázta meg az 1905-ben odaítélt orvos-fiziológiai Nobel-díj, amelyet e század kutató nagyságai jelentős hányadban mikrobiológiai jellegű tevékenységükért nyertek el.

A múlt századi kutatók közül a fizikus **John Tyndall** tevékenysége, a légszennyező por és a mikrobaszennyezettség közti összefüggés, egyes baktériumspórák hőtűrésének felismerése terén, jelentős. Az 1840-es években tevékenykedett a tragikus sorsú magyar **Semmelweis Ignác**, aki ugyan nem ismerte a szülészetben akkor félelmetes gyermekágyi láz kórokozóját, de az általa javasolt fertőtlenítési módszerrel sikerrel küzdött ellene. A brit sebész, **Joseph Lister** a kémiai anyagokkal történő fertőtlenítés (dezinficiálás) kérdését oldotta meg karbol (fenol vizes oldata) segítségével az 1860-as években.

A XIX. század vége bővelkedett a jelentős mikrobiológiai felfedezésekben, jeles kutató személyiségekben. **Emil A. von Behring** (1854–1917) felfedezi, hogy az inaktivált diftéria exotoxin alkalmas vakcinálásra. Az orosz mikrobiológus iskola jeles alakja, **Szergej Vinogradszkij** (1856–1953) munkatársaival (**Omeljanszkij**, **Holodnij**) a talajmikrobiológia alapjait rakta le, felfedezve a kemolitotróf energianyerést, tisztázva a nitrogénfixálás néhány kérdését, tanulmányozták a talajban élő mikroorganizmusok szerepét az elemkörforgalomban és a lebontási folyamatokban. **Martinus Beijerinck** (1851–1931) alkalmazza először a vírus fogalmat a baktériumoknál kisebb kórokozókra. Megemlítendő ebből a korszakból **Ilja Mecsnyikov**, a fagocitózis felfedezője.

Főleg Koch inspiráló tevékenységét követően a századforduló körül sorra tisztázzák az egyes fertőző betegségek és kórokozók kapcsolatát. **Friedrich Löffler** a diftéria, a takonykór, **Charles A. Laverán** és **Ronald Ross** a malária, **Georges Gaffky** a tífusz, **Charles Nicolle** a kiütéses tífusz tanulmányozása terén szerez mulhatatlan érdemeket.

A vírusok tudományos megismerése **Dimitrij Ivanovszkij**, **Paul Frosch**, a már említett **Beijerinck** és **Löffler** munkásságának köszönhető. A bakteriofágok felfedezése már e század eseménye, **Frederick W. Twort** és **Felix d'Herelle** kutatásainak eredménye. **Wendell M. Stanley** nevéhez fűződik a dohánymozaik vírus kristályosítása, szintén ebből az időszakból.

A nagy felfedezők e századi névsorát már csak terjedelmi okokból sem tudjuk közreadni, pusztán arra szorítkozhatunk, hogy a mikrobiológia fejlődésének egy-egy fordulópontját jelentő, egy új fejezetét megnyitó fontos felfedezést, tudományos eredményt emeljünk ki.

Paul Ehrlich és munkatársa, **Sahachiro Hata** több ezer vegyület módszeres átvizsgálása során ismerte fel a salvarsan antibakteriális hatását (1908). A vegyületet sikerrel alkalmazták a vérhaj, a szifilisz kórokozója ellen, megalapozva kemoterápiás szerek kórokozó mikrobák elleni alkalmazásának lehetőségét, amelynek elvi alapja a szelektív toxicitás tényének felismerése volt. **Gerhard Domagk** felfedezi a prontosilt.

Alexander Fleming a penicillin felfedezésével (1929) elindította az antibiotikumok kutatását. Az első antibiotikum gyógyászati alkalmazása ugyan hosszabb időt vett igénybe, de munkatársai, **Howard Florey** és **Ernst Chain** segítségével sikerült a penicillin ipari méretű előállítását megoldani. **Selman Waksman** és munkacsoportja tervezett szűrőmunka eredményeként fedezte fel a sztreptomycint (1944) és további, elsősorban aminoglikozid antibiotikumokat. Tevékenységüket követve hatalmas méretű kutatás indult be, elsősorban talajmintákból kitenyészített mikroszervezetek antibiotikum-termelését vizsgálva. Az antibiotikumok ipari előállítása jelentősen hozzájárult a fermentációval kapcsolatos ismeretek fejlődéséhez, megteremtve ezzel a modern biotechnológia technikai hátterét.

Míg a XX. század első három évtizedében a mikrobiológia fejlődését elsősorban a fertőzőbetegségek, azok kórokozóinak tanulmányozása, a kórokozók elleni küzdelem határozta meg, a negyvenes évektől kezdve szoros kapcsolatba került más biológiai diszciplínákkal, elsősorban a genetikával és a biokémiával. Ennek nyilvánvaló oka az volt, hogy a mikroorganizmusok egyszerűségük miatt kitűnő vizsgálati objektumok voltak, gyors replikálódásuk miatt a velük való munka felgyorsította a kutatást. A három tudományterület termékeny egymásra hatása vezetett el, a negyvenes, ötvenes évek alapvető felfedezései révén, az új szemléletű biológia, a molekuláris biológia létrejöttéhez. A hatvanas, hetvenes évek sok-sok vívmánya új gondolkodásmódot, új stratégiát eredményezett, a rekombináns DNS-technika pedig egy új módszertani arsenált teremtett a biológiai kutatások számára. A felsorolásra kerülő neveket, a hozzájuk kapcsolódó felfedezéseket méltán tekintheti magáénak a genetika, a biokémia, néhány esetben az orvostudomány is. Ami a mikrobiológiához köti őket az az, hogy vagy vizsgálati alanyuk volt egy-egy mikroorganizmus, vagy valóban mikrobiális problémát (pl. vírust) kutattak, illetve ahogy közülük a Nobel-díjat nyertek esetében a díj odaítélésekor is megfogalmazódott: jelentősen hozzájárultak a mikrobiológia fejlődéséhez.

George W. Beadle, **Edward L. Tatum**, **Joshua Lederberg** *Neurospora* mutánsokkal végezték korszakos kísérleteiket gén és géntermék kapcsolatára vonatkozóan. **Salvador E. Luria** és **Max Delbrück** baktériumokat alkalmaztak mutációkkal kapcsolatos tanulmányaikhoz. **Oswald T. Avery** és munkatársai már a negyvenes évek közepén megsejtik, hogy a baktérium-transzformációban a genetikai információt a DNS viszi át. A **Lederberg**-házaspár szellemes technikai megoldása nélkül (replica plating) nehezen képzelhető el a gyors törzsszelekció. Ezt a technikát nem csak a mikrobiális genetika hasznosítja, de széles körben elterjedt módszerré vált. **A. Kornberg** és **S. Ochoa** nukleinsavak bioszintézisével kapcsolatos alapvető felfedezéseik során baktérium-enzimeket alkalmaztak, elsőként előállítva nukleinsavat in vitro rendszerben egy egyszálú DNS fág templáton. **Robert Holley**, **Har G. Khorana**, **Marshall W. Nirenberg** a genetikai kód megfejtésekor mikroorganizmusokon dolgoztak. **François Jacob**, **André Lwoff**, **Jacques Monod** baktériumokat, vírusokat tanulmányoztak génregulációs modelljük kidolgozásakor. **Peyton Rous** felfedezte, hogy a vírusok daganatot okozhatnak. **David Baltimore** és **Howard Temin** tisztázták, hogy léteznek olyan RNS-vírusok, amelyek replikációjában reverz transzkriptáz működik (ezt az enzimet ma a genetika, a molekuláris biológia rutinszerűen alkalmazza, ez teremtette meg az ún. fordított genetika vizsgálati lehetőségét), és ez az oka a retrovírusok daganatkeltésének. **Renato Dulbecco** a DNS-vírusok daganatos transzformációban játszott szerepét kutatta. **B. S. Blumberg** a *Hepatitisz-B vírus*, **D. C. Gajdusek** a lassú vírusok tanulmányozása terén szerzett mulhatatlan érdemeket. A rekombináns DNS-technika nagyjai közül **Paul Berg**

vírusgenom elemzést végezve jutott el jelentős eredményeihez. **Werner Arber**, **Daniel Nathans**, **Hamilton Smith** munkássága révén ismerhettük meg a bakteriális eredetű restrikciós endonukleázokat (felfedezéseikért 1978-ban kaptak Nobel-díjat, ma ezeket az enzimeket hallgatói gyakorlatokon rutinszerűen használjuk). **César Milstein** és **Georges J.F. Köhler** kifejlesztette a monoklon antitestek előállításának módszerét (ez a technika messze túlmutat a csak immunológiai felhasználási lehetőségen), amelyet a daganatkeltő vírusok gyakorlati alkalmazása tett lehetővé. Válogatásunk a nagy nevek sokaságában önkényes volt. Tucatjával sorolhatnánk továbbiakat, néhányuk nevével egy-egy anyagrész tárgyalásakor találkozunk.

VÁGVÖLGYI CSABA

2. A MIKROORGANIZMUSOK RENDSZEREZÉSÉNEK ALAPELVEI



2.1. A mikroorganizmusok rendszerezésének jelentősége és alapelvei

A mikroorganizmusok rendszerbe sorolása többféle módon történhet és többféle célt szolgál. Az egyik megközelítés (**fenetikus rendszer**) a hasonló sajátosságokat mutató mikroorganizmusokat olyan, többé-kevésbé jól körülhatárolt csoportokba sorolja, melyek általában gyakorlati szempontokat figyelembe véve is jól kezelhetők és aminek eredményeként az egyes mikrobákról rendelkezésre álló információk is megfelelően csoportosíthatók. Ezáltal természetesen arra is lehetőség nyílik, hogy az új izolátumok megfelelő identifikálás (meghatározás) után a hozzájuk hasonló jellegeket mutató csoportba besorolhatók legyenek. Ezen megközelítési móddal ellenében egy **filogenetikai rendszer** a természetes rokonsági viszonyok feltárása révén hozható létre és ezáltal az a valódi evolúciós (leszármazási) kapcsolatokat tükrözi.

A gyakorlati célokat szolgáló mesterséges rendszerek sajátossága lehet, hogy kiemelnek egy vagy néhány (az adott alkalmazás szempontjából fontos) jelleget és kizárólag ez alapján kategorizálnak (pl. a *B. thuringiensis* csak a inszekticid parasporális kristályok jelenlétében különbözik a *B. cereus* fajtól). Az ilyen **monotetikus** csoportosítással szemben a ma használatos rendszerezések általában **politetikusak**, azaz a rendszerbe sorolás a mikroba több sajátosságának figyelembevételével történik.

Egy sajátos, az utóbbi néhány évtizedben a mikrobiológián belül is teret nyert megközelítési mód a **numerikus taxonómia**. Ennek során a politetikus csoportosítás alapján létrehozott fenetikus rendszerekben a vizsgált (alapvetően fenotípusos) sajátosságok, különböző kódolási stratégiák alkalmazásával olyan karakterekké alakíthatók, melyek először egy statisztikai feldolgozást, majd a kapott eredmények grafikus ábrázolását (**dendrogram**) teszik lehetővé. Amennyiben egy hasonló taxonómiai vizsgálat olyan karakterekre épül (általában nukleinsav- és aminosav-szekvenciák) amelyek esetleges hasonlósága a valódi rokonsági kapcsolatokat tükrözi, a létrehozott törzsfát **kladogramnak** nevezzük.

A mikrobiológia tárgykörébe tartozó rendszerezés alapegysége a magasabb rendű (növényi, állati) szervezetekhez hasonlóan a **faj**. Mivel azonban itt a szexuális rekombinációhoz vezető folyamatok hiányozhatnak (pl. aszexuális gombák), esetleg kevésbé rendszeresen, illetve más jelleggel játszódnak le, a **biológiai** fajkonceptió alkalmazása gyakran nehézségekbe ütközik. Még egyértelműbben kirajzolódó korlátai vannak a morfológiai bélyegekre alapozó **morfológiai** fajkonceptiónak. A molekuláris bélyegeket (elsősorban a DNS-homológia) alapján történő faj meghatározás képezi a **filogenetikai** fajkonceptió alapját. Mindez érzékelteti, hogy a mikroba-törzsek pontos fajmeghatározása és egymástól való elkülönítése a sokszor igen prob-

lematikus. Kissé általános definícióként elfogadható, hogy minden mikróbfaj a hasonló sajátosságokat mutató **törzsek** összessége, amelyek jellemző különbségeket mutatnak a többi fajt reprezentáló törzsektől. Egy adott törzs egyetlen organizmus (baktérium- vagy gombaizolátum) genetikailag homogén sejtekből álló, tiszta tenyészetben fenntartott származéka. A törzs és az **izolátum** elnevezést gyakran egymás szinonimájaként használják, bár az utóbbi helyesen csak egy adott forrásból izolált, vad típusú (genetikailag nem markerezett) mikroorganizmus törzset jelent.

A mikroorganizmusok megnevezése (a vírusok kivételével) a **binomiális nevezéktan** szabályait követi. Egy faj kettős latin nevének belül (pl. *Streptococcus pyogenes*) az első név a nemzetséget (**genus**) jelöli (*Streptococcus*), amely a második névvel kiegészítve (*pyogenes*) jelzi ezen nemzetség egy adott fajtát. A mikroorganizmusok esetében is előfordulhatnak **szinonim** nevek; ebben az esetben egy faj több különböző névvel jelöl. Jóval ritkábban találkozunk **homonim** nevekkkel; ebben az esetben ugyanazon névvel két különböző fajt is leírtak. Abban az esetben, ha egy faj többször is leírtak, a legkorábbi fajleírás az érvényes (**prioritás**).

A **típustörzs** (type strain) egy adott faj először leírt, vagy legjobban jellemzett törzse. Ezek a törzsek alapvető fontosságúak az új izolátumok besorolásánál: jellemző sajátosságaik a fajmeghatározás alapját képezik (**típezés**). Ezek a törzsek nemzetközi törzsgyűjteményekben (pl. ATCC, American Type Culture Collection, Rockville, USA; CBS, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, Hollandia) kerülnek elhelyezésre, hogy folyamatosan hozzáférhetőek legyenek a későbbi összehasonlító vizsgálatokhoz. Új faj leírása esetén ezt (a latin fordításával kiegészítve) nemzetközi folyóiratban publikálni kell.

2.2. A vírusok rendszerezése

2.2.1. A vírusok rendszerezésének alapelvei

A vírusok jelenleg használatos felosztása mesterséges; esetükben ma még nem beszélhetünk filogenetikai rendszerről. Korábban (molekuláris szerkezetük feltárása előtt) csoportosításuk alapvetően a fertőzött gazdaszervezet (pl. bakteriofágok, növények és állatok vírusai), illetve az abban kiváltott kórfolyamat alapján történt. Ilyen, gyakorlati szempontok alapján készült, jól áttekinthető felosztások ma is léteznek. Mivel már nagy számban ismerünk különböző molekuláris sajátosságaikat tekintve is jól jellemzett vírusokat, lehetővé vált ezen információkra alapozott vírusrendszer létrehozása is.

Ezen rendszer kialakítására felhasznált fontosabb tulajdonságok közé tartozik a virion morfológiája (pl. virion mérete és alakja; burok jelenléte vagy hiánya; peplomerek jelenléte vagy hiánya; kapszid szimmetriája és szerkezete), a virion fizikokémiai és fizikai sajátosságai (pl. detergens, oldószer, pH és hőstabilitás; a virion szedimentációs koefficiense, úszósűrűsége és molekuláris tömege; a virion felépítő fehérjék száma, mérete és szerepe; a virion lipid- és szénhidrátartalma), a vírus antigén sajátosságai és biológiai jellemzői (pl. természetes gazdaspektrum; a természetes átvitel módja; vektorok szerepe az átvitelben; földrajzi elterjedtség; patogenitás).

A felsoroltakon kívül a vírusok rendszerezésében kulcsszerepe van a virális genom jellemzésének. Ezen belül a genom teljes (vagy részleges) szekvenciája, a virális nukleinsav fajtája (DNS, RNS), egy- vagy kétszálúsága, osztatlan vagy szegmentált volta (a szegmentek számával) és egyszálú nukleinsav genom esetén annak polaritása a legfontosabb vizsgált jellemzők. Különösen az egyre növekvő számban hozzáférhető szekvenciaadatok azok, amelyek hosszú távon elősegítik egy olyan rendszer kialakítását, amely (legalább egyes részleteiben) a jelenleginél jobban tükrözi a valódi rokonsági kapcsolatokat.

A vírusok rendszerezésénél a legfontosabb taxon (rendszertani csoport) a faj, amely azonban a klasszikus faj fogalomtól eltérően értelmezhető. Az ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses; Nemzetközi Vírustaxonomiai Bizottság) által 1991-ben elfogadott definíció szerint egy vírusfaj a vírusoknak egy olyan politetikus csoportja, amely egy replikatív leszármazási vonalat alkot és egy adott ökológiai niche-t foglal el. A hasonló sajátosságokat mutató vírusfajokat nemzetségekbe, ezeket családokba soroljuk; esetenként, a családokon belül alcsaládok megkülönböztethetők. Azon ritka esetekben, ha a rendelkezésre álló adatok kellő bizonyítékot szolgáltatnak különböző családokba tartozó vírusok filogenetikai kapcsolatáról, nagyobb rendszertani egységek, rendek (ordo) kialakítására is sor kerül. Ez jelenleg még inkább kivételes eset; az ICTV által elfogadott vírusrendszer 1995-ben egyetlen (*Mononegavirales*), de még 1998-ban is csak két rendet (*Mononegavirales* és *Nidovirales*) foglal magában.

A vírusok (vírusfajok) hivatalos nemzetközi elnevezése az angol nevékhöz, illetve az ebből kialakított akronimhez igazodik (pl. human herpesvirus 1, HHV-1; simian T-lymphotropic virus, STLV; tobacco mosaic virus, TMV).

A vírusrendszerben használatos nevezéktan:

-**virales**: rend

-**viridae**: család

-**virinae**: alcsalád

-**virus**: nemzetség

2.3. Prokarioták rendszerezése

2.3.1. Prokarioták rendszerezésének alapelvei

A baktériumok többségének jó tenyésztetősége jelentős mértékben elősegítette a bakteriális taxonómia kialakulását és későbbi fejlődését. Komoly nehézséget jelentett azonban ezen a területen, hogy a prokariota sejt mikroszkópos vizsgálata nem nyújt kellő alapot egy megbízható identifikáláshoz. Ennek okán a baktériumok meghatározásában és rendszerezésében már a kezdeti időktől fogva nagyobb szerepet játszott a különböző diagnosztikai reakciók, sejtfestési eljárások és szelektív tenyésztési módszerek segítségével kapott eredmény, mint a vizsgált baktériumsejt morfológiai jellemzői.

A fejezet bevezető részében a fajfogalommal kapcsolatosan említett problémák a baktérium rendszertanban is fellelhetők. Ennek következtében a baktériumfajok és a bakteriális rendszertanban használt taxonok jelentős része mesterséges. Lényegi változás a molekuláris taxonómiai módszerek alkalmazásától várható, amelynek eredményei elősegíthetik egy, az evolúciós kapcsolatokat is tükröző filogenetikai rendszer kialakítását (lásd pl. az *Archea* és *Eubacteria* elkülönítése).

2.3.2. A baktériumok nevezéktana

A baktériumfajok megnevezésére is latin binomiális neveket használunk (pl. *Serratia marcescens*). A bakteriológiában gyakran találkozunk faj alatti kategóriaként alfajokkal. Ezek megjelölése a **serotípus** (serotype, serovar), ha valamely antigén sajátosságban, **patotípus** (pathotype, patovar), ha valamely patogenitást érintő sajátosságban, vagy például **biotípus** (biotype, biovar), ha valamely biokémiai, vagy fiziológiai sajátosságban mutatnak eltérést.

2.3.3. A baktériumok rendszerezésére használt hagyományos eljárások

A baktérium taxonómia hagyományos vizsgálati módszerei között elsőnek a **morfológiai vizsgálatokat** kell említenünk. Ezen belül a sejt morfológia fénymikroszkópos vizsgálat révén meghatározható a baktériumok mérete, alakja (pl. kokusz, pálcika, vibrio, spirillum), a sejtek jellegzetes elrendeződése (pl. diplokokusz, szarcina), élő sejtek esetében a mozgékonyáguk. Mikroszkópos festések alkalmazásával feltárható a bakteriális tok, vagy az endospórák jelenléte és elhelyezkedése. Ezen festések közül kiemelendő a Gram-festés, amely segítségével lehetséges az

eltérő falszerkezetű Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumok megkülönböztetése. A mikromorfológiai jellemzőkön túl az identifikálásban lényeges szerep jut a különböző táptalajokon megfigyelhető telepmorfológiai sajátosságoknak is; ilyen például a telep mérete, színe vagy általános morfológiája.

A különböző **biokémiai teszteknek**, a **metabolikus sajátosságok** vizsgálatának kulcsszerep jut a baktériumok hagyományos identifikálásában. A különböző táptalajokban és táptalajokon, változatos feltételek mellett történő tenyésztéssel meghatározhatók a vizsgált baktérium növekedéséhez szükséges optimális és minimális feltételek (pl. oxigénellátottság, pH, sókoncentráció, hőmérséklet, tápanyagigény). Különösen fontos a különböző szén- és nitrogénforrások hasznosítási képességének vizsgálata, továbbá azok a tesztek, melyek különböző enzimek és toxinok termelését mutatják ki. Ilyen többek között a koaguláz (a vérplazma koagulálása), az ureáz (urea bontása), az amiláz (keményítő hidrolízise), a kataláz (a hidrogén-peroxid elbontása), vagy a zselatináz (zselatin hidrolízise) reakció. A toxinok közül leggyakrabban a hemolizinek kimutatása történik, melyek véres táptalajon a-, vagy b-hemolizist okoznak. A baktérium izolátumok rutinmeghatározásában mind nagyobb szerep jut azoknak a szelektív és differenciálós táptalajoknak, amelyek csak egy-egy faj vagy taxon karakterisztikus növekedését teszik lehetővé.

2.3.4. Kemotaxonómiai és molekuláris taxonómiai módszerek a bakteriológiában

A sejt kémiai összetétele indirekt módon az adott sejt genetikai állományát jellemzi, ezért a baktériumsejtek által mutatott ilyen különbségek kitűnően felhasználhatók taxonómiai vizsgálatokhoz is. A sejtalkotók közül a sejtfal összetételében (és szerveződésében) is számottevően különbözik a Gram-pozitív és a Gram-negatív baktériumokban; ez előbbieknél a teichonsavak, míg a Gram-negatív sejtekben a csak rájuk jellemző felszíni lipopoliszaharidok (O-antigén) jelenlétét kell kiemelni. Esetenként Gram-pozitív baktériumokban olyan sejtfelszíni polisaccharidok detektálhatók, melyek differenciálós értékűek (pl. *Streptococcus* fajok Lancefield csoportosítása). A baktériumok karakterisztikus különbségeket mutathatnak a sejtmembrán összetételében, elsősorban a benne előforduló lipidek kémiai természetében is.

Számos molekuláris metodika is felhasználható a baktérium-izolátumok identifikálására, a fajok és egyéb taxonok közötti rokonsági kapcsolat vizsgálatára. Közülük a fontosabbakat a következő (gombataxonómiai) fejezet keretein belül ismer-tetjük részletesen.

2.4. A gombák rendszerezése

2.4.1. A gombák rendszerezésének alapelvei

A gomba elnevezés sokféle, egymástól lényeges tulajdonságokban különböző és filogenetikailag is heterogén élőlényeket jelöl. Taxonómiájukkal kezdetben a növényrendszertan foglalkozott egy alapvetően mesterséges rendszer keretein belül. A korszerű gombataxonómia a valódi gombák esetében filogenetikai alapokon, **monofiletikus** (valamely feltételezett, közeli közös őstől származó) csoportok kialakítása révén kíséri meg a rendszerezést. Mivel a gombák esetében is (a baktériumokhoz hasonlóan) kevés fosszilis lelet áll a rendelkezésünkre, a filogenetikai rendszer kialakítását alapvetően a molekuláris technikák alkalmazásával kapott eredmények teszik lehetővé. A feladat nehézségét mindenesetre jól érzékelteti, hogy a leírt gombafajok száma ma megközelítőleg 120 ezer, amely a becslések szerint azonban csak mintegy 8%-a az összes létező gombafajnak.

2.4.2. A gombák nevezéktana

A gombafajok elnevezése szintén kettős latin névvel történik a Nemzetközi Botanikai Kódex szabályainak megfelelően; a név után esetenként a faj leírójának nevét is megtaláljuk (pl. *Mucor piriformis* Fischer). A korábban ismert nevezéktani szabályok (pl. tipizáció, prioritás) a gomba rendszertan esetében is érvényesek. A szinonim és homonim nevek előfordulásán kívül azonban találkozunk néhány speciális problémával is. Számos gombafaj több morfológiai alakban is ismert (**pleomorf**). Ebben az esetben eltérő nevet visel az aszexuális (**anamorf**) és a szexuális (**teleomorf**) forma: pl. az *Aspergillus tetrazonus*-nak (anamorf) az *Emericella quadrilineata* teleomorf felel meg. Egy speciális eset a zuzmók rendszerezése, ahol a besorolás a szimbiota gombapartner alapján történik.

A gombarendszertanban használatos nevezéktan:

- mycota: törzs
- mycotina: altörzs
- mycetes: osztály
- mycetidae: alosztály
- ales: rend
- aceae: család

A gombarendszerben esetenként faj alatti (infraspecifikus) kategóriák is felbukkannak. A változat (**varietas**) megjelölést a típus törzstől morfológiailag kis mérték-

ben eltérő, de azzal szexuális rekombinációra képes taxon viseli. A specializálódott forma (**forma specialis, f.sp.**) és az inkább kórtani kategóriaként használt **rassz** ilyen morfológiai különbséget nem mutat, ugyanakkor csak egy meghatározott gazdanövényfajt, illetve meghatározott fajtát képes megfertőzni (pl. *Puccinia graminis* f.sp. *tritici*).

2.4.3. A gombák rendszerezésére használt hagyományos eljárások

A gombák hagyományos rendszerezésénél felhasznált eljárások között elsősorban a mikro- és makromorfológia bélyegek, fiziológiai és biológiai sajátosságok vizsgálata, továbbá esetenként a keresztezési kísérleteket kell megemlítenünk.

A **morfológiai** bélyegek között például a telepmorfológia (pl. szín), a micéliális vagy élesztőszerű növekedés könnyen vizsgálható jellemzők. Fonalgombáknál a micélium szeptált vagy cönocitikus (harántfalak nélküli) volta, speciális kitartóképletek (pl. klamidospóra), illetve specializálódott hifarészek (pl. rhizoidok) esetleges előfordulása is jellemző bélyeg. A legtöbb morfológiai sajátosság általában a vegetatív szaporítóképletekkel kapcsolatban azonosítható, de az ivartalan spóráképzés hiánya szintén jellemző lehet. Esetenként az ivaros spórák morfológiája is jellemző bélyeg (pl. a zigospóra mérete, felszíni képletei és színe).

A **fiziológiai** jellemzők közül például az, hogy a gomba milyen hőmérsékleti, pH- és ozmotikus viszonyok között növekszik optimálisan, továbbá ezek minimum- és maximumértékei lehetnek fontos bélyegek. Könnyen meghatározható a spórák hőtűrése, hatóanyagokkal szembeni érzékenysége, illetve rezisztenciája. A különböző szén- és nitrogénforrások hasznosítási képessége (asszimilációs spektrum) kellő számú vegyület tesztelése esetén önmagában is igen informatív lehet. Ezen megközelítést az élesztők identifikálásában már régóta, míg a fonalgombák esetében az utóbbi időszakban alkalmazzák sikeresen. Hasonlóképpen a vizsgált törzsek enzimatikus termelése, amely változatos módon meghatározható (pl. tesztcsőben, mikroiterlapon) differenciáló értékű karaktereket szolgáltathat.

A **biológiai** jellemzők közül az izolálás helye, továbbá különösen patogén gombák esetében az eredeti gazdanövény, illetve az izolátummal mesterségesen fertőzhető növények ismerete a lényeges.

Keresztezési kísérletek eredményeit értelemszerűen csak olyan gombák esetében használhatjuk fel, amelyek képesek ivaros folyamatokban való részvételre.

2.4.4. Kemotaxonómiai módszerek

A gombarendszertanban használt kemotaxonómiai markerek közül a **másodlagos metabolitok** termelésének vizsgálatát kell kiemelni. Ilyen anyagok például a pigmentek, a toxinok, az antibiotikumok, amelyek jelenléte, akár sejten belül felhal-

mozdóva, vagy a sejtből kiválasztva jellemző bélyegként szolgálhat. Ezen anyagok vizsgálatának nagy előnye, hogy sokszor viszonylag egyszerű metodikákkal (pl. vékonyréteg-kromatográfia) is elvégezhető.

Vannak ritkábban alkalmazott kemotaxonómiai eljárások is. Esetenként sikerrel alkalmazták az elektrontranszport lánc részét képező ubikinonok (koenzim Q) vizsgálatát is taxonómiai célra, az izoprén egységek számában mutatott eltérés alapján. Hasonlóképpen találunk példát a **sejtfal kémiai összetétele**, továbbá a **sejtmembrán** lipidtartalmában mutatott különbségek taxonómiai célú felhasználására is.

2.4.5. Molekuláris taxonómiai módszerek

A molekuláris taxonómiai eljárások közé elsősorban a fehérjék és a nukleinsavak vizsgálatán alapuló módszerek tartoznak. A fehérjék taxonómiai célú analizisének legfontosabb formái a következők: fehérjemintázat vizsgálata, izoenzim analízis, fehérje szekvenálás és izoelektromos fókuszálás.

Fehérjemintázat vizsgálata. A vizsgálandó sejtekből különböző anyagokkal (pl. szerves oldószer, detergens, víz) fehérjekivonatot készítünk, ezt elektroforézissel elválasztjuk, majd megfelelő festést követően (pl. Coomassie brilliant blue) az így nyert proteínmintázatot vizsgáljuk. Az elektroforetikus elválasztáshoz használt gélmátrix lehet agar, agaróz, cellulozacetát, keményítő vagy poliakrilamid. Denaturáló gélen (pl. SDS, urea alkalmazása esetén) általában jobb elválást kapunk, mint a natív gélen történő szeparálásnál. Az összfehérje-mintázat vizsgálatának azonban nagy hátránya, hogy a gombasejtben jelenlévő nagyszámú fehérje a kapott mintázatot nehezen kiértékelhetővé és rosszul reprodukálhatóvá teszi. Ezért megfelelő eredmény csak **kétdimenziós elektroforézis** alkalmazása esetén várható: ekkor az egyszer már elektroforetikus szeparált fehérjéket tartalmazó gélt 90 °-os szögben elfordítva újabb elválasztásnak vetjük alá. Ennek ellenére a módszer csak kivételes esetekben bizonyult használhatónak taxonómiai célra.

Izoenzim analízis. Izoenzimnek egy adott enzim különböző formáit nevezik. Ezek előfordulhatnak egy faj ugyanazon, illetve különböző egyedeiben; jelen lehetnek egyazon sejtben, de lehetnek szövetspecifikusak, vagy az egyedfejlődés különböző fázisaiban expresszázódnak. Az izoenzimek többféleképpen jöhetnek létre:

- több génlókuszból különböző, de azonos funkciót ellátó polipeptidet kódol,
- egy génlókuszból több allélja hozza létre a különböző formákat,
- poszttranszlációs módosítások (pl. alkilezés, aminosoportok acilezése) révén,
- ha egy polipeptidláncnak több konformációja is aktív („conformer” hipotézis).

Az izoenzim analízis során a fehérjéket elektroforetikus elválasztják, majd a gélt festik a specifikus enzimaktivitást képviselő fehérjék megjelenítése érdekében.

Az elektroforézis során általában natív elektroforézist alkalmaznak; esetenként használható a denaturáló géll elektroforézis, illetve az izoelektromos fókuszálás is. Az enzimaktivitások kimutatása legtöbbször a gélben történő detektálással történik, de lehetséges a detektálás a fehérjék blotolását követően is (Western blot). A gélben történő detektálás a kimutatandó enzim sajátosságaitól függően történhet egy vagy kétlépéses festéssel, autokromatikus detektálással, egy indikátor-gélmátrix, vagy a szubsztrát kopolimerizáció alkalmazásával.

Taxonómiai vizsgálatok során általában nem szükséges az izoenzim mintázatok genetikai hátterének feltárása, hanem elegendő ezek egyszerű összehasonlító kiértékelése („band-counting”). A vizsgálatba bevont enzimrendszerektől függően az eljárás elsősorban a fajok (pl. citrátköri enzimek) és faj alatti kategóriák (pl. észterázok, foszfatázok) vizsgálatára alkalmas.

Izoelektromos fókuszálás. Az eljárás során a fehérjéket pH grádiens tartalmazó poliakrilamid gélen választják szét. Minden fehérje a rá jellemző érték képviselő izoelektromos pontjának megfelelő pH-értékig vándorol; ekkor elektromos töltése, ezáltal elektroforetikus mobilitása is nulla.

Fehérje szekvenálás. Szekvenáláskor a nagy tisztaságú fehérjépreparátumból, a diszulfid hidak felbontását követően (perhangyasavas oxidáció) parciális hidrolízissel (pl. tripszin) kapott peptidokat analizálják. Az N-terminális és a C-terminális szekvenciák meghatározására enzimatis (pl. aminopolipeptidáz, karboxipeptidáz segítségével) és kémiai módszerek egyaránt ismeretesek (pl. fenilizotiocianátos lebontás). Nagy anyagigénye miatt ezt a módszert (az izoelektromos fókuszáláshoz hasonlóan) viszonylag ritkán alkalmazzák a gombataxonómiában.

A molekuláris taxonómiai vizsgálatok kiterjedhetnek RNS-, illetve DNS-molekulák analizisére is. A számos lehetséges megközelítési mód közül az RNS esetében a kétszálú RNS (dsRNS)-elemek vizsgálatát, illetve az RNS-szekvenálást kell kiemelnünk.

Kétszálú RNS (dsRNS) elemek. A gazdasejtben található mikovírusok genomjaként bizonyos gombatorzsekben kétszálú RNS-molekulák fordulhatnak elő. Kimutatásuk legegyszerűbben gélelektroforézissel történhet. Jelenlétük, illetve a detektálható fragmentek száma és mérete törzsspecifikus bélyeg. Ugyanakkor a virionok (VLP-k, virus-like particles) biofizikai, biokémiai és szerológiai sajátosságainak meghatározása már taxonómiai értékű információkat is adhat.

RNS szekvenálás. A riboszómális RNS (18S, 28S, 5S, 5.8S) szekvenálása kiemelt helyet foglal el a molekuláris taxonómiában. Általános előfordulása, információtartalma és a különböző domáinok eltérő evolúciós sebességgel történő változása miatt univerzális molekuláris kronométernak is nevezik. Az eltérő variabilitású szakaszok vizsgálata révén különböző taxonómiai szintek közötti evolúciós kapcsolatot becsülhető, de ilyen vizsgálatok révén került sor az úgynevezett univerzális filogenetikai törzsfák megalkotására is. Az RNS bázissorrend megállapítása történhet

direkt szekvenálással (oligonukleotid katalógus), részleges kémiai degradációval, klónozott gének szekvenálásával és reverz transzkriptázalal történő szekvenálással.

A gombataxonómiában a DNS vizsgálatán alapuló molekuláris módszerek közül a következőket emeljük ki: GC-tartalom-meghatározás, DNS-DNS-hibridizálás, DNS-szekvenálás, elektroforetikus kariotipizálás és RFLP-analízis.

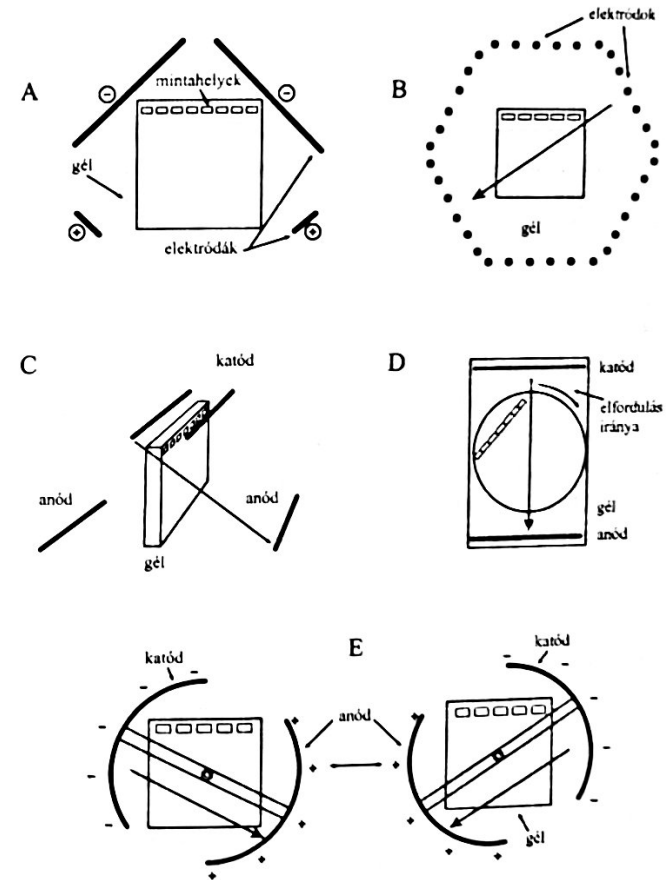
Bázisösszetétel (GC-tartalom) meghatározása. A GC-tartalom vizsgálatával kapott eredményekből csak kellő óvatossággal szabad taxonómiai következtetéseket levonni. 10%-nál nagyobb eltérés egyértelművé teszi, hogy a két mikroorganizmus nincs közeli rokonságban, ugyanakkor igen hasonló GC-értékek nem feltétlenül jelzik ennek fordítottját. A GC-tartalom kiszámítása az alábbi képlettel lehetséges: $\text{mol\% GC-tartalom} = \frac{G+C}{A+T+C+G} \times 100$. A meghatározására használt módszerek közül a hődenaturációval és a CsCl gradiens ultracentrifugálással történő mérés a leggyakrabban használt.

DNS-DNS hibridizálás. Az eljárás során a kétszálú DNS denaturációját követően (akkor a komplementer szálak elválnak egymástól) két különböző gombatörzs DNS-ének jelenlétében hozzuk létre a renaturációt: ennek mértéke arányos lesz a két törzs DNS-ének homológiájával. A heteroduplexek analizise történhet elektronmikroszkópos vizsgálat, a CsCl gradiensben történő ultracentrifugálás, vagy spektrofotometria alkalmazásával. Ez utóbbi esetben a vizsgált törzsek közötti genetikai távolságot a hibrid heteroduplex (he) és a homoduplex (ho) termális stabilitásának különbsége adja, amely az újraolvastatásukkor kapott T_m -értékek alapján számolható ($D\% = T_m(T_{m_{he}} - T_{m_{ho}}) \times 1,5$). Az egy fajhoz tartozó mikroorganizmusok magi DNS-e általában 70% feletti homológiát mutat.

DNS szekvenálás. Rendszertani vizsgálatokhoz olyan egy kópiában meglévő (vagy egységként viselkedő) gének szekvenálása jöhet elsősorban szóba, amelyek a vizsgált mikroorganizmusokban azonos funkciót töltenek be és nagyjából hasonló evolúciós sebességgel változnak. Ezen elveknek megfelelően taxonómiai vizsgálatokat végeztek (sok egyéb gén mellett) például citokróm oxidáz, rRNS, riboszomális fehérje elongációs faktorok, továbbá reverz transzkriptáz és DNS polimeráz gének szekvenciájának felhasználásával. Az ismert szekvenciák hozzáférhetőségét nemzetközi adatbankok (pl. EMBL), összehasonlító elemzésüket pedig számítógépes programok teszik lehetővé. A szekvenciameghatározás korábbi metódusait (Maxam-Gilbert, illetve Sanger-Coulson módszerek) mindinkább kiszorítja a polimeráz láncreakciót (PCR) hasznosító automatizálható szekvenálási módszer.

Elektroforetikus kariotipizálás. Az elektroforetikus kariotipizálás lehetővé teszi a gombák kromoszomális DNS-ének méret szerinti elválasztását, ezáltal a magi genetikai állomány analizését. Mindez technikailag a pulzáttott mezejü gélelektro-

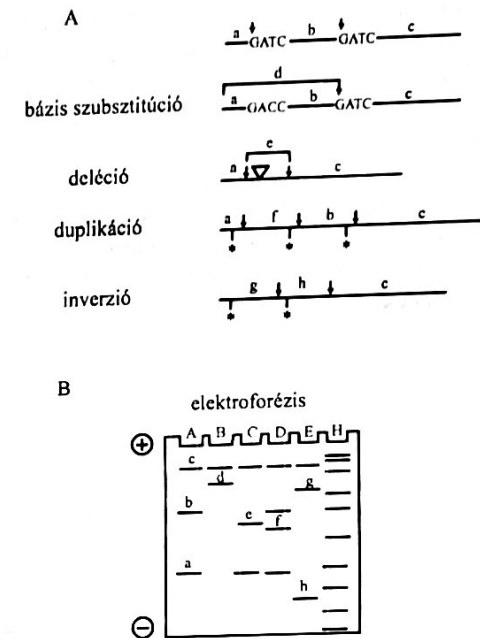
forézissel valósítható meg, melynek lényege, hogy a DNS-molekulák vándorlásuk során két váltakozó, egymással szöveget bezáró elektromos tér hatására állandó orientálódásra és reorientálódásra kényszerülnek; mindez a kisebb molekuláknak mobilitásbeli előnyt biztosít. Az elektroforetikus kariotipizálás segítségével meghatározhatjuk a kromoszómaszámot és -méretet, továbbá a genom méretét. Megfelelő számú törzs vizsgálata a fajon belüli **kromoszóma hossz polimorfizmusról (CLP)** ad információt, amelynek további elemzését teszi lehetővé, ha homológ és heterológ génpárakkal különböző géneket is kromoszómához rendelünk. Az elektroforetikus kariotipus legtöbbször törzsspecifikus bélyegként kezelhető. A módszer változatos technikai megoldásai ismertek (2.1. ábra):



2.1. ábra: Néhány pulzáttott mezejü gélelektroforézisre használt berendezés felépítésének vázlatja: A: OFAGE; B: CHEF; C: TAFE; D: RGE; E: RFG (a rövidítések jelentését lásd a szövegben).

- **PFGE** (Pulsed Field Gradient Gel Electrophoresis): egy katódsor és egy pontanód létrehozta inhomogén és egy katód-, illetve anódsor előidézte homogén erőteret biztosít.
- **OFAGE** (Orthogonal Field Alternation Gel Electrophoresis): egy-egy hosszú katód és rövid anód által két inhomogén elektromos erőteret létrehozó készülék.
- **FIGE** (Field Inversion Gel Electrophoresis): Az elektromos mező megfordításával (180 °-os reorientációs szög) egyetlen elektródpar hozza létre a váltakozó erőteret. Az előreható pulzus időtartama mintegy háromszorosa a visszafelé hatónak.
- **CHEF** (Contour clamped Homogeneous Electric Field): a két homogén, 120 °-os szögben váltakozó elektromos erőteret 24, hexagonálisan elhelyezkedő elektróda hozza létre. A torzulásmentes futás lehetővé teszi a DNS molekulák megfélelő összehasonlítását.
- **TAFE** (Transverse Alternating Field Electrophoresis): az elválasztás egy függőleges gélen történik, amelynek vastagsága döntő szerepet játszik az elválasztásban. A gél hosszában sem a reorientációs szög, sem az elektromos tér erő nem állandó. Éles sávelválást biztosít.
- **RGE** (Rotating Gel Electrophoresis): az elektromos erőter változását a gél (egy szabadon választható szögben történő) periodikusan elforgatása biztosítja. Hátrányként jelentkezik a mechanikus átfordulás okozta idővesztés, továbbá az 1%-nál kisebb koncentrációjú gélek használhatatlansága.
- **RFG** (Rotating Field Gel electrophoresis): a két homogén, kitűnő felbontást adó erőteret mechanikailag periodikusan elforgatott elektródparok hozzák létre.
- **PACE** (Programmable Autonomously Controlled Electrode): az elektródokon fellépő feszültséget számítógépes program szabályozza. Az elválasztás valamennyi paramétere, így a reorientációs szög is változtatható, ami lehetővé teszi a 8–10 Mb-nál nagyobb (a fonalgombák esetében gyakran előforduló) kromoszomális DNS-ek jó elválasztását is.

RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) analízis: Egy DNS molekulát egy II. típusú restrikciós endonukleáz a specifikus felismerési/hasítási helyeinek számától és elhelyezkedésétől függően adott számú és méretű fragmentre hasít. A DNS-ben bekövetkező minden olyan változás, amely befolyásolja ezen hasítási helyek számát vagy elhelyezkedését (pl. bázispár-helyettesítések, deléciók, inszerciók, inverziók, transzlokációk) megváltoztatják ezen hasítási fragmentek számát, illetve méretét (2.2. ábra). Az ilyen, a homológ kromoszomális régiók emésztése során detektált restrikciós fragmentek mérete közötti különbségeket nevezzük restrikciós fragment hossz polimorfizmusnak (RFLP). Elektroforetikus szeparálást követően ezen fragmentek jellegzetes mintázatként jelennek meg, amelyek tovább-



2.2. ábra: RFLP-markerek vizsgálata:

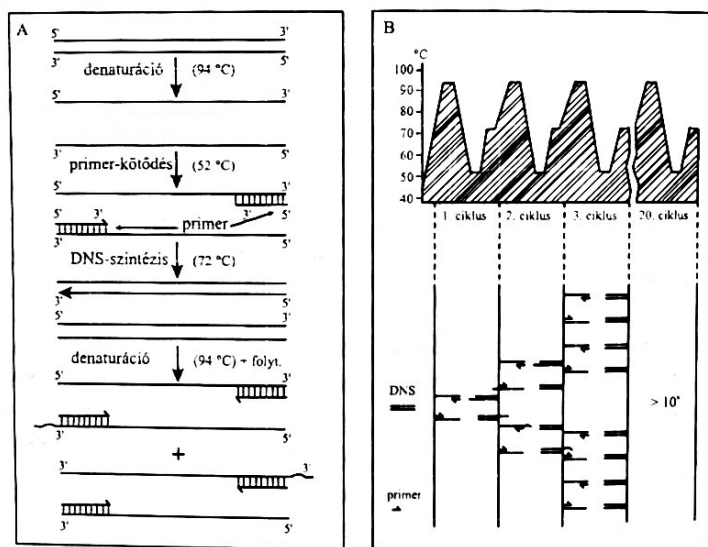
(A) polimorfizmus kialakulásához vezető szekvenciaváltozások, (B) az ehhez tartozó, restrikciós endonukleázok segítségével, gélelektroforetikus elválasztás után észlelt mintázat.

bi analízisére cDNS-klónokat, klónozott géneket, random genomiális fragmenteket szoktak általában felhasználni. Az RFLP-analízis kitűnő markerforrásnak bizonyult számos gombataxonómiai munkában, elsősorban fajon és génuson belüli vizsgálatok esetén.

RFLP analízist nemcsak a magi örökítőanyagban, hanem a mitokondriális DNS-en (mtDNS) is el lehet végezni. Ennek előnye, hogy a mtDNS nagy kópiaszámában fordul elő és kis mérete (19–121 kbp) miatt könnyen értékelhető emésztési mintázatot ad. A mtRFLP vizsgálata történhet izolált mitokondriumokból történő mtDNS kivonása révén, illetve összDNS izolálását követően, ha sejtmagi DNS-t eltávolítjuk (pl. N-acetátos kicsapás, CsCl gradiens ultracentrifugálás). Hasonlóképpen, az összDNS-ből történő vizsgálatot tesz lehetővé, ha specifikus mitokondriális próbákat alkalmazunk (hibridizációs analízis), vagy ha GC-gazdag négy bázispáros felismerőhellyel rendelkező restrikciós enzimeket használunk (pl. *HaeIII*); ez utóbbi módszer azoknál a gombáknál vehető számításba, ahol a mtDNS GC-tartalma kisebb mint a magi DNS-é.

Lehetőség van arra, hogy a restrikciós endonukleázokkal nyert mintázaton oligonukleotid-próbákkal hibridizációs analízist végezzünk (DNA fingerprinting). A felhasznált próbák igen változatosak lehetnek, így például az M13 fág darabja (GAGGGTGGCGGTTCT), szintetikus ismétlődő oligonukleotidok ((GTG)_n) vagy hipervariábilis emberi DNS-ből származó oligonukleotidok.

PCR (Polymerase Chain Reaction): A polimeráz láncreakció egy több ciklusban lezajló folyamat, melynek során megfelelő primerek segítségével, több ciklusban (ált. 25–45) felszaporítható egy adott DNS-molekula, a primerekkel komplementer régiói közé eső szakasza (pl. 35 ciklus esetén 2³⁵ DNS-kópiát kapunk). A folyamat során ciklusonként lezajlik a DNS templát hődenaturációja (egyszálúvá válása), mindkét szálon a primerek kötődése (annealing) és a polimeráz katalizálta lánchosszabítási reakció (2.3. ábra). A reakcióhoz kezdetben DNS-polimerázt, ma viszont szinte kizárólag hőtüró DNS-polimerázokat (pl. *Thermus aquaticus*, *T. thermophilus*, *Thermococcus litoralis* enzimek) használnak. A primerként alkalmazott próba lehet specifikus (a templát DNS egy meghatározott régiójához kötődő) és random (véletlenszerűen megszerkesztett) oligonukleotid is. A PCR-alapú vizsgálatoknak számos változata ismert; ezek legtöbbször az alkalmazott primerek természetében térnek el egymástól.

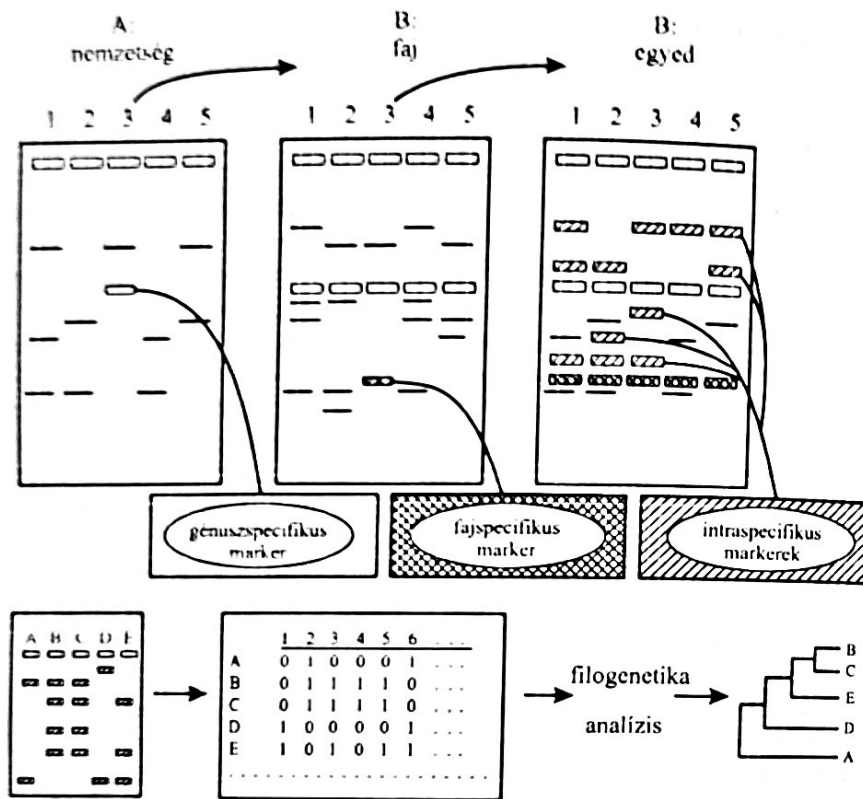


2.3. ábra: A PCR elve

(A) Egy PCR-ciklus felépítése, (B) illetve a reakció során végbemenő hőmérsékleti változások sematikus ábrázolása.

- **SSCP-PCR** (Single Stranded Conformation Polymorphism) analízisben a felszaporított DNS-fragmentet (pl. a riboszomális ITS régió) egyszálúvá teszik, majd formamid tartalmú agaróz gélen szeparálják.
- **PCR-RFLP**: az amplifikált DNS-t restrikciós enzimekkel emésztik; többnyire ezt is a riboszomális DNS változékonyabb szakaszaira (pl. ITS) alkalmazzák.
- **MAAP** (Multiple Arbitrary Amplicon Profiling) elnevezéssel foglalják össze a random primereket alkalmazó módszereket. Ilyen a **RAPD** (Random Amplified Polymorphic DNA), amelyben általában tíz nukleotidból álló random primert alkalmazva felszaporíthatók azok a DNS-szakaszok, melyek a primerekkel homológ invertált ismétlődő szekvenciák közé esnek. Kitűnően alkalmazható fajok és faj alatti taxonok vizsgálatára. Az **AP-PCR** (Arbitrarily Primed PCR) a RAPD-tól az alkalmazott primer méretében (ált. 18–32 nukleotid) és a primer/templát arányban tér el (itt ez az érték 1–500, míg a RAPD-nál egynél kisebb). A **DAF** (DNA Amplification Fingerprinting) esetében rövid primert (5–15 nukleotid) és 5–50 000-es primer/templát arányt használnak. A **SRFA** (Selective Restriction Fragment Amplification) analízisnél a templátként használt DNS-t az amplifikálás előtt restrikciós enzimekkel emésztik. A **PCR fingerprinting** esetében a DNS fingerprintingnél alkalmazott repetitív próbákat használják primerként.

A fehérje-, illetve a DNS-vizsgálati módszerekkel nyert molekuláris markerek között esetenként meghatározhatók olyanok is, melyek egy-egy taxonra specifikusak (pl. fajspecifikusak). Ezek felhasználásával az új izolátumok meghatározása, besorolása igen hatékonyá tehető (2.4. ábra). Az ilyen jellegű, illetve egy-egy taxonon belüli variabilitást vizsgáló kísérleteknél azonban ügyelni kell arra, hogy a különböző eljárások érzékenysége eltérő, ezáltal csak bizonyos taxonómiai szintek vizsgálatára alkalmasak. A taxonómiai vizsgálatok során leggyakrabban alkalmazott néhány módszer felhasználási területe az 1. táblázatban látható.



2.4. ábra:

Egy adott taxonra specifikus (monomorf) markerek meghatározásának sematikus vázlata

2.1. táblázat: A taxonómiaiban használt néhány karakter és felhasználási területük

Karakter	T*	F	N	C	R	O
Morfológiai:						
- makromorfológia	◆	◆	◆	◆	◆	◆
- mikromorfológia	◆	◆	◆	◆	◆	◆
- hisztokémiai	◆	◆	◆	◆	◆	◆
- ultrastrukturális	◆					
- citológiai kariotípus			◆	◆		
- anamorf kapcsolatok		◆	◆			
- anamorf morfológia					◆	◆
- mitózis				◆	◆	
- szeptumok						
Fiziológiai:						
- hőmérséklet, pH, inhibitorok hatása a növekedésre	◆	◆				
- spórák hőtűrése	◆	◆				
- szénforrás hasznosítás	◆	◆				
- enzimtermelés	◆	◆				
- másodlagos metabolitok	◆	◆				
- inozitol-D-glukuronát		◆		◆	◆	
- rezisztencia	◆					
Kemotaxonómiai:						
- pirolízis gázkromatográfia		◆				
- kisméretű metabolitok (TLC, HPLC)	◆	◆				
- koenzim Q (ubikinonok)		◆	◆	◆	◆	
- mikocinek	◆	◆	◆	◆	◆	
- sejtfal összetétel	◆	◆	◆	◆	◆	
Genetikai:						
- párosodási hajlam		◆				
- vegetatív inkompatibilitás	◆					
- micéliális intersterilitás		◆				

Karakter	T	F	N	C	R	O
Biológiai:		◆	◆			
– gazdaszervezet	◆	◆				
– szubsztrátum		◆	◆	◆	◆	
– biogeográfia						
Szerológiai:			◆			
– sejtfalalkotók immunológiája		◆				
– fehérje immunoelektroforézis						
Molekuláris:						
– <i>fehérjék:</i>						
a.) fehérje elektroforézis		◆	◆			
b.) izoenzim analízis		◆	◆			
c.) immunológia		◆	◆	◆	◆	◆
d.) szekvenálás	◆	◆	◆	◆	◆	◆
– <i>DNS</i> (magi, ill. mitokondriális):						
a.) RFLP		◆	◆	◆		
fingerprinting		◆				
b.) fizikai térképezés		◆	◆			
c.) PCR-RAPD	◆					
d.) szekvenálás	◆	◆	◆	◆	◆	◆
e.) kariotipizálás		◆	◆			
f.) plazmidok		◆				
g.) DNS bázisösszetétel			◆	◆		
h.) DNS reasszociáció		◆	◆			
– <i>RNS:</i>						
a.) dsRNS vírusok		◆				
b.) szekvenálás: 5S RNS				◆	◆	◆
c.) szekvenálás: 18S/26S RNS		◆	◆	◆		

- * T = törzs (izolátum)
- * F = faj
- * N = nemzetség
- * C = család
- * R = rend
- * O = osztály

SZÜCS GYÖRGY

3. VÍRUSOK

3.1. Alapfogalmak

A „vírus” szó eredeti jelentése: mérge. Más szóval jellemezve: **a vírus fertőző nukleoprotein, fertőző genetikai információ**, mely csak élő sejtben képes auto-reprodukción. **Három lényeges tulajdonsága** különbözteti meg más mikroorganizmusoktól: **1.) Kis méret.** A vírusok más szervezeteknél kisebbek, méretük kb. 10 és 400 nm közötti (összehasonlításképpen, a baktériumok átlagosan 1000 nm nagyságúak, míg egy vörösvértest 7500 nm átmérőjű). **2.) Genom** (örökítő anyag). A vírusok genomja vagy deoxiribonukleinsav (DNS), vagy ribonukleinsav (RNS); csak egyfajta (!) nukleinsav lehet. **3.) Önálló anyagcsere hiánya.** A fogékony sejten kívül anyagcserét nem mutat; nem rendelkezik aktív riboszómákkal vagy fehérjeszintetizáló rendszerrel (még ha bizonyos vírusokban találhatók is enzimek). A fertőzött gazdasejt szintézisrendszerének átprogramozása útján replikálódik, **obligát parazita**.

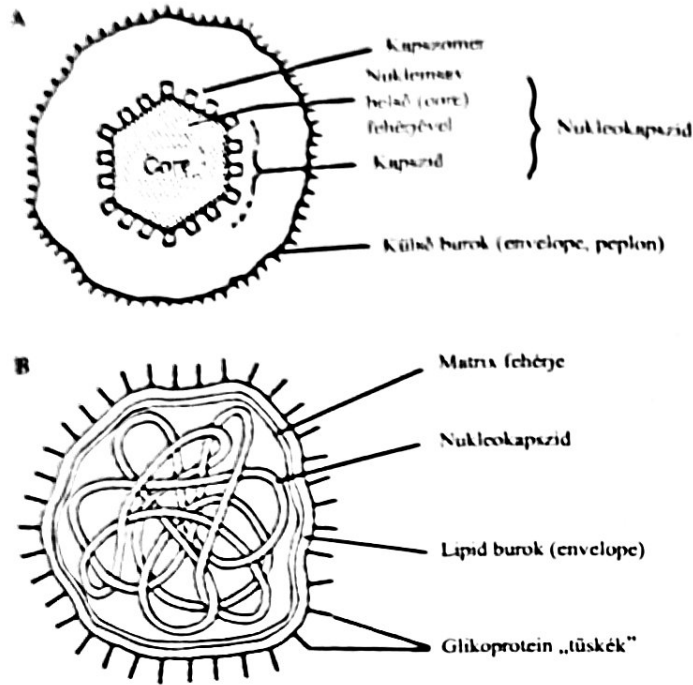
A vírusnak **két alapvető megjelenési formáját különböztetjük el:** **1.) Virion.** A gazdasejten kívüli, morfológiailag komplett, izoláltan fenntartható, szerkezetiileg vizsgálható, esetleg kristályosítható forma. **2.) Vegetatív vírus.** A gazdasejtbe bejutó, „eltűnő” (eklipszia állapot), virion formában nem kimutatható replikálódó vírus-nukleinsav az érett virion megjelenéséig.

3.2. A vírusok evolúciós eredete

A vírusok eredete **nem ismert. Két elképzelés él:** **1.)** autonóm replikációt kialakító, önálló evolúciót mutató, a gazdasejt DNS-éből, RNS-éből, vagy mindkettőből erednek; **2.)** degenerált formái intracelluláris parazitáknak, esetleg ősi primitív sejtekből származnak (pl. ? *Poxvírusok*).

3.3. Virionok felépítése, szerkezete, morfológiája

A virionok **két alapvető részből állnak: a nukleinsavlánc(ok)ból és a köpenyfehérjéből.** A burkot alkotó köpenyfehérje a **kapszid**, ami morfológiai alegységekből, **kapszomerekből** épül fel. (Ez még tovább bontható szerkezeti vagy kémiai fehérjemolekula-egységekre). A nukleinsav és a hozzá szerkezetiileg kapcsolódó burkfehérjék képezik a **nukleokapszidot**, ami egyes vírusok esetében magát a viriont jelenti. A vírusok másik részénél a nukleokapszidot egy sejteredetű **külső burok** (envelope vagy peplon) veszi körül, amibe vírusspecifikus fehérjék, glikoproteinek épülnek be (peplomer, burokalegység) (3.1. ábra).



3.1. ábra: Komplette víruspartikula (virion) építőelemeinek sematikus illusztrációja.
 A Ikozhedrális, burokkal rendelkező vírus B Helikális szimmetriájú vírus
 (Med. Microbiol., 1998)

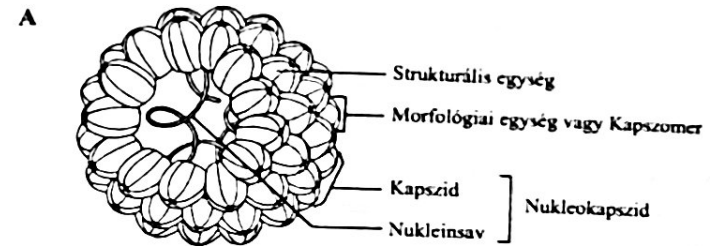
3.3.1. Virionok csoportosítása szerkezetük és szimmetriaviszonyuk alapján

A nukleokapszidok a különböző vírusok felépítésének egységei, és térbeli elrendezésük adja meg a virionok jellegzetes alakját. Elektronmikroszkópos felvételek bizonyítják, hogy a virionok nukleokapszidja szimmetrikus szerkezetű függetlenül attól, hogy a viriont burok veszi-e körül vagy nem. **Négy szerkezeti csoportba** sorolhatjuk a vírusokat a helikális és az izometrikus szimmetriaviszonyok szerint:

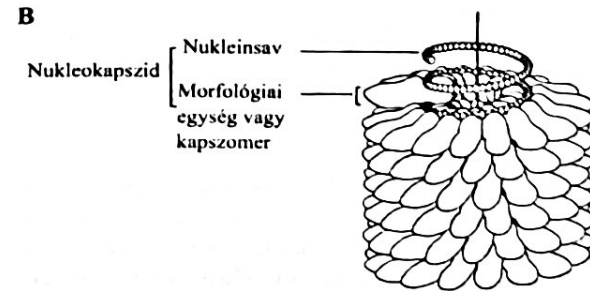
1.) **Helikális vírusok.** A köpenyfehérje-alegységek csavarvonal (helix) mentén, elsődlegesen hosszengely körüli szimmetriával helyezkednek el (3.3. ábra). Ribonukleotid csőként is felfoghatók (pl. *Dohánymozaik vírus*), pálcika- vagy hosszú fonál alakúak

(pl. *Filovírusok*). A nukleinsavláncon szabályszerű elrendeződésben, kukoricaszemekhez hasonlóan foglalnak helyet a köpenyfehérje-alegységek. Az *Influenzavírus* esetében a nukleokapszid-fonál nem egyenes, hanem felszavardott, és burok veszi körül.

2.) **Kubikális vírusok.** A köpenyfehérje-alegységek egy szabályos kristályrendszer szerint (izometrikusan) rendeződnek a legkevesebb szabad energia felhasználásával. Az izometrikus virionoknál a szimmetriaelrendeződés legtökéletesebben az ikozhedrális formában valósul meg, ahol minimálisan 60 azonos alegység vesz részt a szabályos mértani forma felépítésében. (Az ikozhedrális 20 azonos alegység vesz részt a által határolt alakzat, melynek 30 éle és 12 csúcsa van. A háromszögek csúcsmintájúak. 3.2. ábra). Kubikális vírusok pl. a *Parvovírusok*, *Picornavírusok*, *Adenovírusok*, a növénypatogén *Caulimovírusok*, vagy a *Tarlórépa Mozaik Virus (TYMV)* stb.



3.2. ábra: Kubikális szimmetriájú ikozhedrális víruspartikula
 (C. R. Madeley: *Virus morphology*)



3.3. ábra: Helikális szimmetriájú víruspartikula nukleokapszidja (Adv. Virus. Res., 1960)

3.) Binális vírusok. A farkos bakteriofágok (pl. T páros fágok, Mu fág, λ fág, stb.) tartoznak ide, ahol a helikális és izometrikus szerkezet kombinálódik; a fejrész izometrikus (ikosaéder vagy oktaéder), a fark pedig helikális szerkezetű fehérjecső, amely spirális lefutású molekulaláncból épül fel. Kisebb binális vírusoknál egy farkvégi tapadófonál van, míg a nagyobb, komplexebb vírusoknál 6 – kontraktilis fehérjéből álló – farkvégi fonál biztosítja a gazdasejtbe való kötődést és a nukleinsav sejtbe juttatását.

4.) Komplex struktúrájú vírusok. Mindazon vírusokat ide soroljuk, amelyek nem felelnek meg a fenti három csoport szimmetriaviszonyainak. Legismertebb képviselőik a *Papovirusok*, ahol a tojásdad alakú virionok felszínét vastag, főleg fehérjéből álló réteg veszi körül, amit még egy burok is borít. Ebből gyakran szabályos elrendeződésben kifüremkedések, ún. „tüskék” állnak ki.

A fenti szimmetriaviszonyokból és kémiai felépítésből eredő lehetőségeknél a vírusok morfológiai megjelenése sokkal több variációt mutat. A virionok gyakran gömb alakúak, legtöbbször a külső burok miatt. A kubikális és helikális formán belül lehetnek még ovoidok (pl. *Papovirus*), pleomorfok (pl. *Coronavírus*), szferikusak (pl. *Orthomyxovírusok*, *Retrovírusok*), amorfok (pl. *Bunyavírus*), vagy lövedék-, illetve bacillusformájúak is (pl. *Rhabdovírusok*).

3.3.2. Virionok molekuláris felépítése

(i) **Vírusnukleinsav.** A vírusok csak egyfajta nukleinsavat, vagy DNS-t, vagy RNS-t tartalmaznak, mely kódolja mindazt a genetikai információt, ami a vírus replikációjához szükséges. A genom lehet: **1.) egyszálú (ss, single stranded) vagy kétszálú (ds, double stranded), 2.) lineáris vagy cirkuláris, 3.) egy darabból (nonsegmented) vagy több darabból (segmented) álló, 4.) osztatlan vagy osztott (több komponensű, multikomponensű), 5.) Egyszálú vírusgenom esetében pozitív (+) vagy negatív (-) polaritású (a pozitív polaritású szál önmagában fertőző, a fertőzött sejtben azonnal mRNS-ként működik, míg a negatív polaritású szálról előzetesen egy komplementer pozitív szálra van szükség a vírusnak képeznie szaporodásához).**

A nukleinsav típusa, a szál milyensége és annak molekulatömege képezi egy vírus víruscsoportba történő besorolásának elsődleges alapját.

A DNS vírusgenomok molekulatömege $1,5 \times 10^6$ Da (*Parvovírus*) és 2×10^8 Da (*Poxvírus*) között lehet, míg a vírus-RNS genomok tömege a 2×10^6 Da (*Picornavírusok*) és 15×10^6 Da (*Reovírusok*) tartományban van. A genom mérete és bázisösszetétele meghatározza a vírus aminosavkódoló kapacitását. A legtöbb vírusgenom védő kapszidjától megfosztva törékeny, de ha sikerül sérülés nélkül preparálni, hossza elektronmikroszkópos vizsgálattal megmérhető. A DNS-vírusok genomja lineáris vagy cirkuláris konfigurációjú egyetlen ds vagy ss DNS-moleku-

la. Az RNS-vírusoknál a ds és ss vírus-RNS változatosabb formákban létezik: lehet egyetlen lineáris molekula (pl. *Picornavírusok*), de több darabból, szegmentből is állhat (pl. *Orthomyxovírusok*), melyek lazán kapcsolódnak egymáshoz a virionon belül. Egyes növényi vírusoknál (pl. *Tobravirus*, *Cucumovirus*, *Alfavirus*) az RNS-genom osztott, ahol 2, 3 vagy akár 4 kapszidban, különböző nagyságú RNS szál formájában van benne a teljes genom. Ebből következően ilyenkor a fertőzéshez a teljes genomot kiadó összes virion kell. Az izolált RNS egyes vírusok esetében (pl. *Picornavírusok*, *Togavírusok* stb.) ún. „pozitív szálú/polaritású” [+ss RNS, ami fertőző, és az egész molekula mint mRNS funkcionál a fertőzött sejtben belül. A „negatív szálú/polaritású” [-ss RNS-genomú vírusoknál (pl. *Rhabdovírusok*, *Orthomyxovírusok*) az izolált genom nem fertőző. Az ilyen vírusokban egy RNS polimeráz is van, amelyik a negatív polaritású vírusgenomot átírja a fertőzött sejtben belül komplementer RNS-molekulákba, amelyek már mRNS-ként működnek. A vírusnukleinsavak – az említettekén túl – még számos szerveződést, sajátosságot mutatnak, melyek főleg szaporodásukkal, expressziójukkal függnek össze.

Minden egyes vírus nukleinsavának nukleotid szekvenciája, összetétele jellegzetes. Egy vírusnukleinsav jellemzésére jól felhasználható annak guanidin/citozin (G/C) aránya. Restrikciós enzimekkel, melyek specifikus nukleotid szekvenciáknál vágják el a vírusok örökítő anyagát, és mind számban, mind molekulatömegben jellemző fragmentumokat produkálnak, a vírusgenom jellemezhető. Nagyon sok vírus genomját egészben vagy részben sikerült már szekvenálni, és a kódolt fehérjék számát is meghatározni.

(ii) **Vírusfehérjék.** A vírusfehérjék szerkezeti (strukturális) fehérjék és vírusspecifikus enzimek lehetnek. Feloszthatók külső (kapszid) proteinekre és belső (core) fehérjékre. Utóbbiak a nukleinsavhoz kapcsolódnak, illetve a virion saját enzimeit. A strukturális fehérjéknek, melyek a helikális vírusoknál a szerkezeti monomer elemek, a kubikális vírusoknál pedig a hexamer és pentamer kapszidfehérjék, az alábbi funkciókkal rendelkeznek: **1.)** a vírusgenom egyik sejtbe való átjutását biztosítják, **2.)** a vírusgenom védelmét szolgálják a nukleázokkal szemben, **3.)** a víruspartikula fogékony sejthez való kötődésében vesznek részt, **4.)** a virion strukturális szimmetriáját adják.

A fehérjék feloszthatók még korai (early) fehérjékre (nem strukturális fehérjék), prekurzor fehérjékre (poliproteinek), és késői (late) proteinekre a szaporodási ciklusban való megjelenésük, szerepük szerint.

A fehérjék határozzák meg a vírus antigénjeit. A gazdaszervezet védelmi immunválasza a víruspartikula felszínén lévő fehérje- vagy glikoprotein-természetű antigéndeterminánsok ellen irányul. Bizonyos vírusok felszíni fehérjéi specifikus aktivitással rendelkeznek, pl. az *Influenzavírus* hemagglutininje vörösvérsejteket képes agglutinálni.

Egyes vírusok enzimekkel rendelkeznek, melyek lehetnek: 1.) A replikációhoz **esszenciálisak** és 2.) a replikációhoz **nem feltétlenül szükségesek**. A replikációhoz feltétlenül szükségesek a **nukleinsav polimerázok** (RNS- illetve DNS-függő -dependens RNS-polimerázok, és a *Retrovírusokra* jellemző RNS-függő DNS-polimeráz, más néven a reverz transzkriptáz), a **nukleázok** és **ligázok**. A szaporodáshoz csak részben szükségesek bizonyos vírusokban vagy azok felszínén előforduló enzimek: pl. a **kinázok**, **dehidrogenázok**, **foszfatázok**, és **neuraminidáz**. Binális fágoknál a **virion lizozim** enzimeje oldja fel a baktérium sejtfalát, elősegítve a sejt fertőzését. A *Poxvírusoknál* egy egész transzkripcionális rendszer létezik; legalább 15 különféle enzim van a virionba csomagolva.

(iii) **Lipidok**. Számos vírus szerkezetében a **lipid burok** fontos szerepet játszik. A vírus érése során, amikor a nukleokapszid a sejtmembránnal körülhatárolódik és lefűződik (budding), kerül lipid a vírusba. A lefűződés a **külső vagy a belső sejtmembránokról** csak ott történik, ahol előzetesen vírusspecifikus fehérjék épültek abba bele. A **foszfo- és glikollipidek**, **neutrális zsírok** előfordulását mindig a sejtmembrán jellegzetessége határozza meg, amiből a vírus burka kialakul. A lipid-tartalmú vírusok érzékenyek étterrel és szerves oldószerekkel szemben, és hatásukra fertőzőképességüket is elvesztik.

(iv) **Szénhidrátok**. A vírusburok (envelope, peplon) **glikoproteineket** is tartalmaz. Szemben a sejteredetű lipidekkel, ezeket a glikoproteineket a **vírus kódolja**. Fontos szerepük van 1.) a vírus **sejt receptorhoz** való **kötődésében**, 2.) fontos **vírusantigének**, és 3.) **neutralizációs antitestekkel** kiemelten **kötődnek**.

3.4. Vírusmultiplikáció, a vírusfertőzés lefolyása

A vírusok szaporodása, a vírusok vegetatív ciklusa a virion gazdasejthez való kötődésével kezdődik, és az érett virionnak a sejtől való kiszabadulásával ér véget. E komplex folyamat induló és záró szakaszaiban észlelt eltérések főleg gazdasejt-specifikusak. A vírusok a fertőzött sejt biokémiai rendszerét kényszerítik rá saját maguk megsokszorozására a genomként hozott vagy az általuk a sejtben előállított vírus-mRNS segítségével.

A vírusszaporodás ciklusának lépései a következők:

(i) **Megtapadás** (adszorpció; „attachment”). A sejt plazmamembránján lévő **receptorokhoz** történik a vírus kötődése. Egy adott vírusra nézve a sejt típusa, kora, anyagcseréje, valamint környezete befolyásolja a víruskötőhelyek számát és hozzáférhetőségét. A növényi vírusok megtapadásához előfeltétel a vastag sejtfal mechanikai sérülése (rovarok, jégverés stb.). A megtapadás legjobban 37 °C-on megy végbe, de – noha lassabban – 4 °C-on is bekövetkezik. Kalcium- és magnéziumionok elősegítik a folyamatot.

(ii) **Bejutás** (penetráció; „entry”). Komplex mechanizmusokkal történik: 1.) **endocitózis** (pinocitózis) során a vírust a sejtmembrán körbefogja (pl. *Herpes vírusoknál*). 2.) **sejtfúzióval**, amikor a vírusburok fuzionál a sejtmembránnal (pl. syncytium-képző *Paramyxovírusoknál*), 3.) csak a **nukleinsav** jut be kontraktilis fehérjék **injektálása** révén (pl. *T páros fágoknál*), 4.) baktérium piluson keresztül **konjugáció során** (pl. az ún. Ribofágok esetében), 5.) **direkt penetrációval** (pl. *Parvovírusoknál*).

(iii) **Dekapszidálódás** („uncoating”). A vírus vegetatív ciklusának megindulásához a nukleinsavnak szabaddá kell válni a sejtben belül. A **kapszidfehérjéket** a **sejt saját enzimei**, főleg a lizozómákból származók **emésztik le**. A *Poxvírusok* maguk is kódolnak dekapzidációt befejező litikus enzimeket, míg a ds RNS-vírusoknál csak részlegesen emésztődik le a kapszid. Binális bakteriofágoknál dekapzidálódás nincsen, hiszen csak a nukleinsav jut be a sejtbe.

(iv) **Eklipsz fázis** (**szintetikus események**, eklipsziaállapot). A vírusgenom sokszínűségéből adódóan ebben a fázisban különböző utakon folyik a replikáció. A **transzkripció az első lépés**, melyet jellemez: 1.) a vírusgenomról a vírus-mRNS vagy replikatív intermedierek termelődése, 2.) ez sejteredetű vagy vírusspecifikus enzimekkel folyik, 3.) komplex kontrollmechanizmusok alatt áll: a.) a transzkripció lefolyása gyakran különbözik a vírusnukleinsav replikációja előtt (korai fehérjék, melyek főleg vírusspecifikus enzimek) és után (késői mRNS-ek új struktúr-fehérjékhez), b.) sok vírusgenom „promoter” és „enhancer” szekvenciákat tartalmaz, melyek stimulálják a transzkripciót, c.) az elsődleges transzkriptek gyakran hasítódnak, hogy az „intron” szekvenciák az expresszált „exonok” közül kikerüljenek, d.) a transzkripció egyes esetekben egy génen belül egymást átfedő kezdő- és befejező pontokkal zajlik, így biztosítva, hogy ugyanarról a nukleinsav-szekvenciáról különböző fehérjék szintetizálódjanak.

A **vírusgenom megsokszorozásában a kulcsszerep a vírus-mRNS képzése**, mely a vírusok genomsokféleségének megfelelően – leegyszerűsítve – az alábbiak szerint folyik:

RNS-vírusok			
[+]ss RNS	→	közvetlenül mRNS-ként működik	↓
[-]ss RNS	→	[+]ss RNS szintézis →	mRNS
[±]ds RNS	→	transzkripció [-] szárlól mRNS-re	↑
RNS retrovírusok			
[+]ss RNS	→	[-]ss DNS → [±]ds DNS → transzkripció [-] szárlól mRNS-re	↓
		mRNS	
DNS-vírusok			
[±]ds DNS	→	transzkripció [-] szárlól mRNS-re	↓
		mRNS	
[+]ss DNS	→	[±]ds DNS → transzkripció [-] szárlól mRNS-re	↑

Ha tehát egy mRNS nukleinsav-szekvenciája olyan, hogy lehetővé teszi a közvetlen fehérjeszintézist, a translációt, akkor azt [+] konfigurációnak hívjuk. Negatív [-] konfigurációjú a vírusgenom, ha ennek csak a komplementer száljáról folyhat fehérjeszintézis. Ennek megfelelően a [+]ss RNS (pl. *Poliovírus*) vírusgenomról közvetlenül fehérjeszintézis történik a gazdasajtban, míg a [-]ss RNS-ről (pl. *Influenzavírus*) előbb [+]ss RNS-szal szintetizálódik, amely már mRNS-ként működik. A daganatkeltő *Retrovírusok* [+]ss RNS-c (pl. a HTLV) az élővilágban egyedülálló módon a **reverz transzkriptáz** enzimmel [-]ss DNS-t, majd ebből [±]ds DNS-t képez, amelynek a negatív szála íródik át mRNS-sé.

(v) **Összeépülés** („assembly”). A sejt meghatározott helyén a virion minden építőkövének összegyűlését és a víruspartikula alapstruktúrájának összeépülését jelenti (pl. *Picornavírusok*, *Reovírusok* a citoplazmában, az *Adenovírusok*, *Papovavírusok*, *Parvovírusok* a sejtmagban épülnek fel). A folyamat háttere nem teljesen ismert. Az építőelemek egy adott koncentrációjának elérése **zárványtestek** (inclusion) kialakulásához vezethet, amelyek elhelyezkedése, illetve egy adott vírussal való összefüggése jellegzetes lehet (pl. veszettségben a Negri-testek).

(vi) **Vírusérés** („maturation”). A vírus ebben a lépésben válik fertőzővé. Konformációs, strukturális változások történnek a kapszidfehérjékben; a nukleoproteinek a genommal kondenzálódnak. Vírus- (és celluláris) enzimeknek fontos szerepük van ebben a fázisban. Több vírusról ismert, hogy az alkotórészek összeépülése nem különösen jó hatásfokú folyamat (nem alakul ki a kapszid, vagy nem épül be a nukleinsav). A vírusérés a peplonnal rendelkező vírusoknál csak a sejtmembránon való kitérkedéssel, a bimbózással ér véget.

(vii) **Kiszabadulás** („release”). Az érési szakasz után, részben annak szerves részeként szabadulnak ki a vírusok. Ez rendszerint a fertőzött sejtek szétesésével (pl. *Poliovírusok*) jár, de sok vírus esetében a sejtek csak fokozatosan pusztulnak el, vagy akár hosszú ideig túl is élhetnek a fertőzést. Vannak vírusok, melyek direkt fúzióval képesek átjutni egyik sejtől a másikba az extracelluláris térbe való kilépés nélkül (pl. a *HSV*). Egy-egy fertőzött sejtől – a körülményektől és a vírustól függően – több ezer, több tízezer, esetleg 100–200 000 új virion is képződhet a virionná össze nem épülő, feleslegben termelt vírusalkatrészek mellett.

3.5. A vírusok genetikája (A vírusok kölcsönhatásai. Interferencia.)

A genetikai analízis nagy segítséget jelent a vírusgenom struktúrájának és funkciójának feltárásában, valamint a géntermékek fertőzésben és a betegségben játszott szerepének a megismerésében. Egy szervezet génösszetételét **genotípusnak**, míg az

ezen és a környezeten alapuló megfigyelhető tulajdonságokat az organizmus **fenotípusának** nevezzük. A **mutáció** a genotípusban létrejövő örökletes változás. A **genom** a szervezet géneinek összessége. A **vad-típusú vírus** elnevezést arra az eredeti vírusra használjuk, amelyből a mutánsok származnak, amivel a mutánsokat összehasonlítjuk. A természetes gazdaszervezetből újonnan izolált vírust „**mezei**” (**field**) **vagy primer izolátumnak** hívjuk.

Defektív vírusról beszélünk, amikor a vírusreplikációhoz szükséges egy vagy több funkcionális gén hiányzik a virionból.

Vírusok közötti interakciók: 1.) **Rekombináció** (a rekombináns vírus két vírus nukleinsavának részeiből áll össze. Reassortánsról beszélünk, ha két szegmentált genomú vírusból szegmentcsere révén alakul ki egy új vírus, pl. *Influenza A vírusok*, *Rotavírusok*); 2.) **Genetikus reaktiváció** (rekombináció speciális esete, amikor egy valamilyen ok miatt inaktív vírust egy aktív virion aktívvá tesz, vagy egy sejtben belül sok inaktív partikula aktív virionokat hoz létre); 3.) **Komplementáció** (virális géntermékek sejtben belüli interakciója, amikor egyik vírus egy olyan génterméket produkál a sejtben, amiben a másik vírus defektív volt); 4.) **Fenotípusos keveredés** (egyik vírus genomja véletlenszerűen beépül egy másik vírus kapszidjába, vagy a kapszid két vírustól kap komponenseket).

5.) **Interferencia**. Az a jelenség, amikor egy szövetkultúra, egy állat, vagy egy növény kétféle vírussal fertőződik, és **az egyik vírus replikációját a másik meggátolja**. Független a specifikus immunitástól, és nem mindenfajta víruskombináció esetében észlelhető. **Több mechanizmust** ismerünk az interferencia magyarázatára: 1.) az egyik vírus gátolja a második adszorpcióját a sejtbe (receptorblokkolás, pl. *Retrovírusok*, *Enterovírusok*), vagy tönkreteszi a receptorokat (*Orthomyxovírusok*), 2.) az egyik vírus elvonja a másik elől a replikációs apparátus egyes komponenseit (pl. polimerázt, translációs iniciációs faktort), 3.) az első vírus a fertőzött sejtben inhibitor termelést indít meg, mely a második vírus szaporodását gátolja (pl. interferon). Amikor egymástól eltérő vírusok között lép fel a jelenség, **heterológ interferenciáról**, amikor pedig rokon vírusok között észlelhető, **homológ interferenciáról** beszélünk. **Autointerferenciáról** akkor beszélünk, amikor egy vírus saját szaporodását akadályozza, pl. defektív interferáló partikulák révén. A gyakorlatban az interferencia egyrészt problémát okozhat (pl. *Coxsackie vírusok* akadályozhatják az élő, attenuált *Poliovírus* vakcina hatékonyságát, megakadályozva a *Poliovírus* megtapadását, szaporodását), másrészt diagnosztikai segítséget jelenthet (pl. bizonyos sejtekben citopatogén hatást elő nem idéző *Rubeolavírus* jelenléte *Echovírus* sikertelen felülfertőzésével igazolható).

3.6. A vírusok tenyésztése

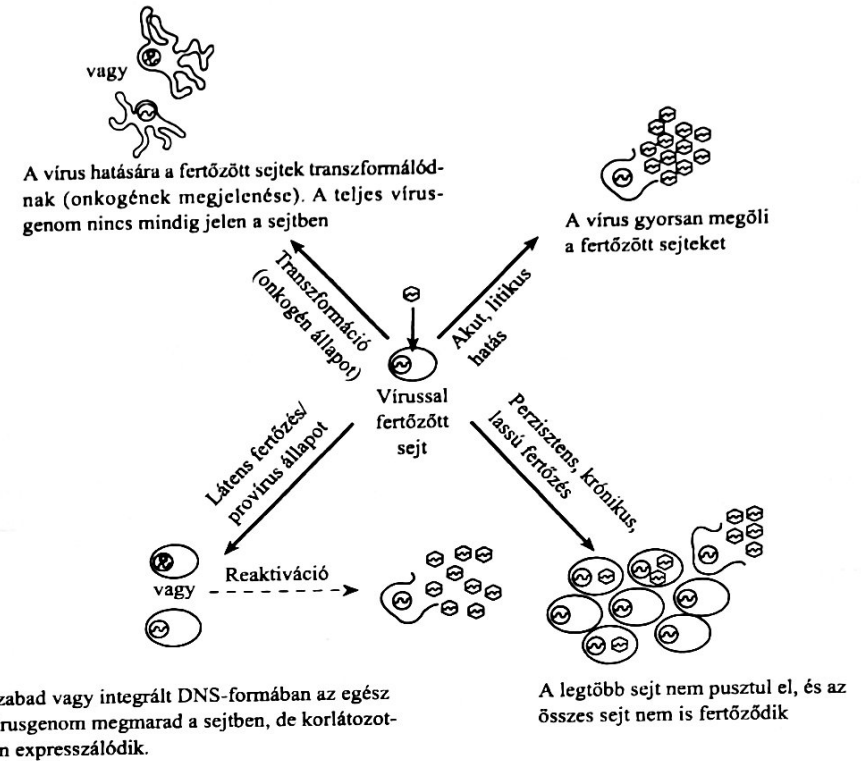
A vírusok csak élő sejtekben képesek szaporodni. A vírus sikeres szaporodásának feltételei: 1.) stabil forma, mely lehetővé teszi a vírus túlélését gazdasejt hiányában, 2.) a gazdasejtbe való bejutás (invázió) képessége, 3.) a víruskomponensek sejten belüli előállításához szükséges genetikai információ, 4.) végül további információ a vírusalkotók összeépüléséhez és a vírus sejtől való kiszabadulásához.

Egyes vírusok sokféle sejten tudnak replikálódni (pl. *Poliovírusok*), mások viszont csak kevésben (pl. a humán *Cytomegalovírus* csak humán fibroblast sejtekben szaporítható). Nem minden vírusinfekció során jönnek létre érett, fertőzőképes vírionok. Ilyen **produktív infekció** csak **permisszív**, a vírusgén működését minden szinten támogató sejtekben valósul meg. **Abortív infekció** során fertőzőképes vírionok nem képződnek, mert vagy a sejt nem permisszív (nem segíti az összes vírusgén expresszióját), vagy a vírus **defektív**, funkcionális gének hiányoznak belőle. **Látens fertőzés** esetén a vírusgenom a túlélő fertőzött sejten úgy van jelen, hogy csak kevés vagy egyetlen egy virális gén sem képes működni (3.4. ábra).

Jelen ismereteink szerint csak a *Rickettsiákban* és a *Chlamydiákban* nem sikerült vírusokat kimutatni. A vírus gazdaspecificitása, szervspecifitása, a sejt, szerv, élőlény kora stb. mind hatással van a vírus szaporodására.

(i) Az állati vírusok szaporítására használható: 1.) **Kísérleti állat**. Leggyakrabban szopós egereket alkalmaznak, és intracerebrális oltással juttatják be a szaporítandó vírust (pl. egyes *Arbovírusok*, *Coxsackie A vírusok* izolálásánál). Klinikai tünetek, az állat elpusztulása jelzi a vírus jelenlétét, szaporodását. 2.) **Csirkeembrió**. 7–14 napos előkeltetett csirkeembrió amnion vagy allantois zsákjában (pl. *Influenzavírusok*), vagy a chorioallantois hártájában szaporítható a vírus (pl. *Herpes simplex*, *Vaccinia vírusok*). Ilyenkor az amnion és/vagy az allantois folyadékából különböző eljárásokkal (pl. hemagglutináció) mutatható ki a vírus, vagy a chorioallantois membránon jellegzetes göcös szövetszaporulat (pock) alakul ki a vírus hatására. 3.) **Szövetkultúra**. Napjainkban a legáltalánosabban használt tenyésztő közeg. Szinte minden állati, emberi szövetből, szervből készíthető közvetlenül elsődleges, ún. **primer** sejt kultúra, mely speciális tápközegben és eljárásokkal egyrétegű (monolayer) sejttenyészetként szaporítható. Bizonyos szaporítási számig (kb. 50 passzálás) a normális kromozómakép fenntartható (**diploid** sejt vonal), ami után folyamatos, **permanens** sejt vonal alakul ki, mely tulajdonságaiban hasonló a daganatokból kialakított, transzformált, és szinte korlátlanul fenntartható sejttenyészetekhez (pl. HeLa).

A vírusszaporodás következtében egyrészt **morfológiai (citopatogén; CP) változások** lépnek fel (sejtlízis, sejtnekrózis, sejtfúzió, zárványtestek, vakuolizáció, apoptózis), másrészt malignus **transzformáció**, sejtburjánzás észlelhető. Más ese-



3.4. ábra: A vírusfertőzés következményei (*Principles of Molec. Virol.*, 1998)

tekben látható elváltozás nincs, de a vírus jelenlétét, replikációját a vírusnukleinsav, mRNS, és fehérjék kimutatásával igazolni lehet.

(ii) A **növényi vírusok tenyésztése** történhet: 1.) a **gazdanövény** mechanikus fertőzésével, amikor a vírusszuszpenzióhoz karburandum port adunk, és enyhe dörzsöléssel megsértve a sejtek falát érjük el a vírusok plazmamembránra való kerülését, 2.) **szövettenyészetek** (protoplaszt, kallusztényészetek) alkalmazásával.

A fertőzést követően **lokális és/vagy szisztémás** tünetek alakulnak ki. A lokális hipertenzív reakció (szövetelhalás) jelzi a sikeres fertőzést, és utal arra, hogy a növény rezisztens az adott vírusfertőzésre, vagy a fogékony növény klorotikus, élszíneződő, torz növekedést mutat. A szisztémás tünetek is változatosak: sárgulás, gyűrűsfoltosság, érkivilágosodás, levélhólyagosodás stb. léphet fel. Osztályozhat-

juk a tüneteket **makroszimptomás és mikroszimptomás** megjelenés szerint is. Az utóbbi esetben szabad szemmel nem észlelhető zárványok, kloroplasztisz-károsodás, abnormális szövetelemek kialakulása a jellemző.

(iii) A **bakteriógok tenyésztése** az érzékeny baktériumok fiatal, aktívan szaporodó sejtjeiben történik. A baktérium opálos levestenyészete a litikus fágok (pl. T páros fágok) hatására feltisztul, vagy agaremezen lévő sűrű baktériumtenyészetben a vírusszaporodás következtében tarfoltok, plakkok alakulnak ki, amik mennyiségi meghatározást, esetenként vírusmutánsok azonosítását, izolálását is lehetővé teszik.

3.7. Virionok kimutatása A vírusok mennyiségi meghatározása

(i) **Fizikai módszerek:** 1.) A víruspartikulák **elektronmikroszkóppal** közvetlenül megszámlálhatók, közel azonos méretű latex partikulákból készült standard szuszpenziókhöz hasonlítva. Ehhez tiszta és koncentrált víruspreparátum kell, és a **fertőző és nemfertőző víruspartikulák nem különböztethetők meg** (abszolút fizikai partikulaszám). 2.) Egyes vírusok olyan fehérjét (pl. hemagglutinin) tartalmaznak, mely emberi vagy állati eredetű vörösvértesteket/sejteket agglutinálni képes. A **hemagglutinációs (HA)** próbák könnyű és gyors módszerek az ilyen vírusok mennyiségének meghatározására. Mind a fertőző, mind a nemfertőző partikulák agglutinálnak; így ez a reakció is az összes vírust méri. 3.) Sok szerológiai eljárás, például a ma már ritkábban használt radioimmunoassay (RIA), és az **enzimhez kapcsolt szerológiai adszorpciós vizsgálat (ELISA;** enzyme-linked immunosorbent assay) standardizálható egy mintában lévő vírushemennyiség meghatározására. Ezek a tesztek sem tudnak különbséget tenni fertőző és nemfertőző víruspartikulák között, és néha olyan vírusfehérjéket is kimutatnak, melyek nem épültek be a virionba.

(ii) **Biológiai módszerek:** A vírusszuszpenzióban lévő **fertőzőképes vírushemennyiség meghatározását** teszik lehetővé. A vizsgálandó vírusszuszpenzió különböző léptékű sorozathígításainak fogékony kísérleti állatba, növénybe, baktériumtenyészetbe, legtöbbször szövettenyészetbe történő oltásával történik a mérés. Leggyakrabban tízes léptékű a hígítás, és minden hígításból több – minimálisan három – állatot, növényt, csirkeembriót, baktériumtenyészetet, szövettenyészetet kell oltani. Az eredményt **ID₅₀** (infektív dózis) vagy **TCID₅₀** (szövetkultúra infektív dózis) értékben adják meg. Ez az ún. **vég-hígítási módszer**, ahol a **vírus titerét** az a legnagyobb hígítás – az a vírushemennyiség – jelenti, amely a beoltott gazdaszervezetek, sejttenyészetek 50%-át pusztítja el vagy idéz elő citopatogén elváltozást.

1.) Bizonyos vírusok (pl. *Herpes simplex vírus*, *Vaccinia vírus*) az előkeltetett tojás chorioallantois membránjára történt oltás után nekrotikus elváltozásokat hoz-

nak létre, amit **pocknak** nevezünk. A hígítás fokának és a számolt **pock-számnak** az ismeretében a kiindulási vírusszuszpenzióban lévő fertőzőképes virionszám kiszámítható. 2.) Ennél elterjedtebb és még pontosabb a **plakk-módszer**. A vírus sorozathígításából egyrétegű (monolayer) sejttenyészeteket fertőznek. Adszorpció után gél állapotú – agart vagy karboximetilcellulóz tartalmazó – médiummal fedik a sejtet, mely meggátolja a fertőzött sejtekből kiszabaduló virionok szabad diffúzióját. Ilyenkor az inkubáció alatt a fertőzés csak a szomszédos sejtekre terjed át, lokális elváltozást (sejtpusztulást) idézve elő, amit plakknak nevezünk. Kontrollált körülmények mellett egy plakkot egy fertőző víruspartikula eredményez (plakk-formáló egység, PFU). Alkalmos festéssel vagy anélkül is, a plakkok makroszkóposan számolhatók. (A fertőző virionok aránya a nemfertőzőkhöz képest igen nagy különbségeket mutathat; általában ezer fizikai partikula közül csak egy fertőző.) 3.) A vírusszaporodás a sejteket nem károsító vírusok esetében is kimutatható **immuno-fluoreszcenciával** (esetleg immunoperoxidáz módszerrel, jelzett in-situ hibridizációval stb.). A vírusantigének lokális megjelenését **fluoreszcens fókuszoknak** nevezük, és fluoreszcens fókuszformáló egységben (FFU) adjuk meg a vírus titerét.

A pock-, a plakk- és a fluoreszcens fókusz-titrálás igen pontos infektív vírushemennyiség meghatározást tesz lehetővé, és a vírusneutralizációs próbák értékelésére is alkalmas.

3.8. A virionok tisztítása

A vírusok fizikai, kémiai és molekuláris biológiai tulajdonságainak vizsgálatához tiszta víruspreparátumokra van szükség. Ennek előállításához első lépésként a **vírust sokszor ki kell szabadítani** a gazdasejtéből (ultrahangos feltárással, homogenizálással vagy ismételt fagyasztással és olvasztással). A kiindulási szövetkultúrátápfolyadék, a szervezetből nyert folyadék, a fertőzött sejtek mennyisége rendszerint túl nagy, amiből először a víruspartikulákat **koncentrálni kell**. Ez történhet **precipitációval** (pl. ammóniumszulfáttal, alkohollal, polietilenglikollal), **ultrafiltrációval**, **kromatográfiás** eljárással, amikor az adszorbeált virionokat megfelelő ionerősségű és pH-jú pufferekkel leoldhatjuk. *Orthomyxovírusok* esetében a **hemagglutináció** és az azt követő **elúció** is alkalmazható. Noha a fenti koncentrálni módszerek közül több alkalmas a sejteredetű törmeléknek és szolubilis komponenseknek a viriontól való részleges elválasztására, mégis ezt a problémát igazán csak az **ultra-centrifugálással** történő tisztítás tudja megoldani. 1.) **Differenciál centrifugálás**nak hívjuk azt a tisztítási eljárást, amikor az előkoncentrált viriontartalmú vizes szuszpenziót ismételt magas (kb. 100 000 × g, 1–3 óra), majd alacsony (kb. 8 000–10 000 × g, 10–20 perc) fordulatszámra centrifugáljuk. Először a vírusok a nehezebb sejtorganellumokkal együtt ülepednek, a felülúszóban pedig – amit előtünk –

a kisebb molekulák ottmaradnak. A vírustartalmú üledék reszuszpendálása után végzett alacsony fordulátú centrifugálásnál a vírusok a felülúszóban maradnak, a sejtoranellumok pedig pelletálódnak. A felülúszó ismételt magas fordulátú centrifugálása ülepíti le végül a virionokat. 2.) A sebességi („rate zonal”) grádiens centrifugálásnál a vírustartalmú előkoncentrált szuszpenziót a centrifugációs előformált, lépcsőzetesen sűrűsödő szacharóz- vagy glicerindatára rétegzik, és a vírusok abban vándorolnak a cső alja felé szedimentációs koefficiensük által meghatározott sebességgel. A gradiensrétegben végül éles csikban (band) szeparálódnak. A szedimentációs koefficiens a virionok nagyságától, alakjától és denzitásától függ. A sűrűségi („density”, „equilibrium”) vagy „isopycnic”) grádiens centrifugálás ún. úszósűrűségük alapján szeparálja a virionokat magas denzitású cézium-klorid vagy kálium-tartarát oldatban. Ekkor 18–24 óráig vagy még hosszabb ideig tartó, igen nagy gravitációs erővel (igen magas fordulatszám) történő ultracentrifugálás után a virionok éles csíkot (band) képeznek a centrifugációs csőben abban a részében, ahol az oldat denzitása azonos a virionéval.

3.9. Vírusok rendszerezése

A vírusok osztályozásának rendszere állandóan változik az újabb és újabb ismeretek megjelenésével. Az egyes kategóriákban rendelkezésre álló információk nem minden oda tartozó vírusra egyformán érvényesek. Újabban a genom szekvenálása a vírusazonosításnál korán megtörténik, de az adatbázisokkal való összevetés mellett a klasszikus tulajdonságokat is értékelni kell. Ugyanakkor a genomszekvencia-adatok fontos taxonómiai kritériumok, melyek alapul szolgálnak új vírusszaládok felállításához.

A jelenlegi taxonómiai besorolás az alábbiakon alapul:

- 1.) **Virion morfológiája** (méret, alak, szimmetriatípus, peplomer megléte vagy hiánya, stb.),
- 2.) **Fizikokémiai tulajdonságok** (molekulatömeg, ülepedési sűrűség, pH-stabilitás, hőstabilitás, fizikai és kémiai /éter, detergens/ szerekkel szembeni ellenállás),
- 3.) **Vírusedény** (nukleinsav típusa, a genom mérete /kilobázis, kilobázispár/, szála száma, alakja, polaritása, szegmentáltsága, nukleotid szekvencia, G+C-tartalom, speciális szakaszok),
- 4.) **Vírusedény** (strukturális és nem-strukturális fehérjék száma, mérete, funkciója, aminosav-szekvencia, módosító (glikoziláció, foszforiláció stb.) és egyéb speciális tulajdonságok (transzkriptáz, reverz transzkriptáz, neuraminidáz, fúziós aktivitás),
- 5.) **Genomszerveződés és replikáció** (génrend, „open reading frames” száma és pozíciója, a replikáció stratégiája és helye a sejtben),

- 6.) **Antigén tulajdonságok,**
- 7.) **Biológiai tulajdonságok** (természetes gazdaszervezetek, átvitel módja, vektor-kapcsolat, patogénitás, szövetotropizmus, patológia).

(i) **Tüneteken nyugvó (szimptomatológiai) rendszerezés.** Ezen alapul a vírusok legrégebb csoportosítása. A vírus okozta megbetegedéseket veszi alapul, és a gyakorlat számára bizonyos előnyökkel jár. A biológus számára viszont nem igazán kielégítő, mert több teljesen eltérő vírus okozhat azonos megbetegedést (pl. légúti infekciók, májgyulladás), vagy ugyanaz a vírus más-más klinikai tüneteket, betegséget válthat ki különböző szervezetekben szaporodva (pl. HSV – ajakherpesz, agyvelőgyulladás).

(ii) **A vírustaxonómia univerzális rendszere.** A vírusok osztályozásának első kategóriája a **család** (family), aminek alapját a virion morfológiája, a genom szerkezet, és a replikáció módja képezi. A vírusszalád neve „viridae”-re végződik. A család tovább osztható **nemzetségre** (genus), mely besorolásnál a fizikokémiai és szerológiai tulajdonságok a meghatározók. A genus név vége „-vírus”. (Négy vírusszalád /*Poxviridae*, *Herpesviridae*, *Parvoviridae*, *Paramyxoviridae*/ esetében – a besorolt vírusok komplexitására utalóan – **alcsalád** (subfamily; „-virinae”) kategóriát is felállítottak. Vírusszaládokat egy magasabb kategóriába, **rendbe** (order) is be lehet sorolni közös jellemzők alapján. Jelenleg csak egy rend, a *Mononegavirales* rend lett felállítva, melybe a *Filoviridae*, *Paramyxoviridae* és *Rhabdoviridae* családok tartoznak. A Nemzetközi Vírustaxonómiai Társaság (ICTV) 1995-ben több mint 4000 állati és növényi vírust 71 családba, 11 alcsaládba, és 164 nemzetségre sorolt be, de többszáz vírus rendszertani besorolása még hiányzik. (A növényi vírusokat nemzetközi megállapodás alapján a fő gazdanövényen okozott tünet alapján nevezik el, csatolva ehhez a vírus rendszertani helyére utaló elnevezést is; pl. *Tobacco mosaic tobamovirus*, TMV.)

3.10. Bakteriofágok

Az eukaryota sejteket fertőző subcelluláris ágensek (emberi, állati és növényi vírusok, valamint az algák és gombák vírusai) mellett ismeretesek a prokaryoták – a baktériumok – vírusai is. Ezeket **bakteriofágoknak** nevezzük, mivel a baktériumokban elszaporodva feloldják azokat (phageo = elfogyasztani). Csaknem minden baktérium rendelkezik specifikus bakteriofággal, amelyek a vírusok rendkívül szerteágazó, többszáz speciést magába foglaló csoportját jelentik. A bakteriofágok tudományos jelentősége igen fontos, mert a vírusok megismerése, a molekuláris biológia számos alapvető megfigyelése a bakteriofágok vizsgálata során teljessé vált ki.

A könnyen tanulmányozható, gyorsan szaporodó, olcsón előállítható fágok nemcsak a virológia, hanem a genetika, a molekuláris biológia, a biofizika és a biokémia számára is ideális modellként szolgálnak.

A fágok szaporodásuk módja szerint 1.) litikus fágok és 2.) temperált fágok lehetnek. A litikus fágok a szaporodásuk során nagyszámú új fágot produkálva megölik, feloldják a gazdasejtet (közülük legjobban tanulmányozottak az *E. coli* T-sorozatú, T2, T4, T6 farkos fágok), míg a temperált fágok nem minden esetben okozzák a gazdabaktérium pusztulását, hanem nem-litikus profág formában is létezhetnek, amikor a fág nukleinsava beépül a gazdasejt nukleinsavába. (A legjobban tanulmányozott temperált fág az *E. coli* λ fágja.) A profágot hordozó baktériumsejtekben a fág replikációját egy represszor jellegű fehérje gátolja; ezt az állapotot lizogén állapotnak nevezzük. Lizist okozó fágindukció spontán is felléphet, de mutagén ágensekkel vagy UV-sugárzással a gyakorisága növelhető.

A fággenom magával vihet kromoszómadarabokat a gazdasejtből, vagy fág-DNS rész maradhat a baktériumban, a gazdasejt egyes tulajdonságainak megváltozását okozva (pl. korábban toxint nem termelő baktériumok toxintermelővé válhatnak, vagy megváltozhat egyes antibiotikumokra való érzékenységük \rightarrow lizogén konverzió). A bakteriofágok által közvetített nukleinsav-átvitel neve transzdukciónak.

További osztályozást tesz lehetővé a fágok szigorú gazdaspecifitása. Egy bizonyos fág ugyanis általában csak egy baktériumfajt fertőz, sőt egy fajon belül is különbség tehető fágok segítségével a más módszerekkel el nem különíthető baktériumtörzsek között (fágtipizálás).

Az előzőekben a fágok felépítéséről és szaporodási módjairól már említés történt.

3.11. Tumorvírusok, onkogének

Egyes vírusok etiológiai szerepe igazoltnak tekinthető, mások esetében szoros epidemiológiai összefüggés mutatható ki bizonyos humán és állati daganatokban. Többlépéses folyamatról van szó, amikor a vírus genetikai információjának nagyon kis mennyisége (egy vagy néhány virális gén) is elégséges lehet a normálsejt malignussá tételéhez. E folyamat vizsgálata már eddig is sok ismerettel bővítette tudásunkat a normálsejt növekedési regulációjáról. A tumorvírusok megfelelő gazdaszervezetben daganatot indukálnak; szövettenyészetekben is „transzformálni” képesek a sejteket, lehetővé téve a daganatképződés celluláris és szubcelluláris szintű vizsgálatát.

Az RNS-tumorvírusokkal igazolni lehetett a celluláris onkogének fontos szerepét a neopláziában, míg a DNS-tumorvírusok vizsgálata a sejtek tumor-szuppresszor géneinek szerepét tárta fel.

A víruskarcinogenezis általános jellemzői

(i) **Többlépcsős karcinogenezis.** Több genetikai változásnak (sejtszinten minimálisan 3–8 mutációnak) kell követnie egymást, hogy a normálsejt malignussá váljon. Átmeneti állapotokat írtak le „immortalizáció”, „hiperplázia”, „preneoplázia” elnevezésekkel. Rendszerint hosszú idő telik el egy tumor megjelenéséig. Bizonyos szelektív növekedési előnnyel rendelkező nagyon kevés sejt ismételt szelekciója áll a soklépcsős folyamat hátterében. A legtöbb rendszerben a tumorvírus mint kofaktor szerepel, csak néhány fontos lépést adva a sejt malignus elfajulásához.

(ii) **Tumorvírusok típusai.** Az összes ismert tumorvírus egyrészt DNS-genommal rendelkezik, vagy DNS-provírust hoz létre a fertőzött sejtben. DNS tumorvírusok a Papova-, Adeno-, Herpes-, Hepadna-, és a Poxvírusok közé tartoznak. Az összes RNS-tumorvírus a retrovírus család tagja (Avian Sarcoma Virus, Avian Leukosis Virus, Mouse Leukemia Virus, Felin Leukemia Virus, Humán T-sejtes Lymphotrop Virus /HTLV), és reverz transzkriptázzal rendelkezik, mely egy DNS-kópiát készít a vírus RNS-genomjáról. A DNS-kópia (provírus) beépül a fertőzött sejt genetikai állományába. A tumorindukció alapján kétféle RNS-tumorvírust lehet megkülönböztetni: az erősen onkogén, közvetlenül transzformálni képes vírusokat (ezek egy celluláris onkogént visznek), és a gyenge onkogén, lassan transzformáló vírusokat, melyek nem rendelkeznek onkogénnel, és hosszú inkubáció után – indirekt mechanizmusokkal – leukémiát okoznak. Az onkogén kifejezés egy általános megnevezése mindazon géneknek, melyek rákot okoznak. Kevésbé veszélyes ezeknek a transzformáló géneknek a normálsejtekben előforduló proto-onkogénnek nevezett változata. A celluláris proto-onkogének az élőlényekben nagymértékben konzervált szekvenciák, ami a sejtek működésében betöltött fontos szerepükre utal (kinázok – *src*, növekedési faktorok – *sis*, membránfehérjék – *ras*, nukleáris transzkripciós faktorok – *myc*, *fos*). Az erősen transzformáló retrovírusokban kb. 20 különböző celluláris onkogént találtak.

(iii) **Tumorvírusok interakciója a gazdasejttel.** A DNS-tumorvírusok természetes gazdaszervezetükben replikálódnak, de benne tumort ritkán, vagy nem is okoznak. Ugyanakkor ezek a vírusok képtelenek heterológ szervezetben szaporodni, de alkalmanként azokat transzformálni tudják. (Például az SV40 vírus gazdaszervezetében, a rhesus majomban vagy e majomból készített sejtenyészetben jól szaporodik, de nem transzformálja azt; ugyanakkor rágszövetekben, illetve ilyen eredetű sejtekben malignus elváltozást okoz.) Meg kell jegyezni, hogy a humán rákokkal kapcsolatba hozott DNS-tumorvírusok mind humán vírusok, de – szerencsére – az is igaz, hogy a legtöbb velük történt fertőzés nem eredményez tumort.

Az RNS-tumorvírusok természetes gazdaszervezeteikben rákot okoznak. Képesek replikálódni a homológ sejtekben, és transzformálni is azokat. Heterológ sejteket, permisszív és nem-permisszív sejteket is tudnak transzformálni. Az RNS-

tumorvírusok nem ölik meg azokat a sejteket, amelyekben szaporodnak. A leukémia-vírusokkal fertőzött sejtek morfológiai, citopatogén elváltozást nem mutatnak, normálisan nőnek, míg a szarkómavírusokkal fertőzöttek morfológiai változást mutatnak és tumorsejtként szaporodnak.

(iv) **Tumorvírusok nukleinsav-integrációja a gazdasejtbe.** DNS-tumorvírusok esetében a genom egy része integrálódik a gazdasejt kromoszómájába, RNS-tumorvírusoknál pedig a vírus-RNS-ről készült DNS-kópia egy része épül be. Általában csak a vírusgenom néhány kópiája, valószínűleg csak egy van a transzformált sejtben beépülve. **A vírusgénnek és transzformáló génnek kinyerése a tumorsejtekből:** A transzformált sejtek rendszerint vírust nem produkálnak. Rekombináns technikákkal (pl. transzfekcióval, molekuláris klónozással) a tumorsejtekből kinyert celluláris DNS-t vizsgálva keresnek vírusspecifikus szekvenciákat. Több olyan celluláris onkogént sikerült már felismerni, amelyek ismert RNS-tumorvírusokban nem fordulnak elő. **A vírussal történő sejtranszformáció mechanizmusa:** egyrészt a tumorvírus új „transzformáló gént” visz be a sejtbe, másrészt megváltoztatja vagy indukálja egy meglévő celluláris gén kifejeződését. Mindkét esetben a sejt elveszti normális növekedési kontrollját.

(v) Az **RNS-tumorvírusok** a retrovírusok *Oncovirinae* alcsoportjába tartoznak; RNS-dependens DNS-polimerázzal (reverz transzkriptázzal) rendelkeznek. A retikuloendoteliális és a vérképző rendszer daganatait (**leukémiák, lymphomák**), vagy a kötőszövet tumorait (**szarkómák**) okozzák. A burokkal körülvett, ikozaedrális virionban három fontos és jellemző gén van a két identikus kópiában lévő egyfonalú, pozitív polaritású RNS-szálon: az *env* gén, mely a burookban lévő típus-specifikus és alcsoport-specifikus glikoproteineket kódolja, a *gag* gén, amelyik a virion core fehérjével összefüggő csoport-specifikus antigéneket kódolja, és a *pol* gén, mely elsősorban a reverz transzkriptáz kódolásáért felelős. Morfológiailag B, C és D onkovírusok ismertek, melyekből a C típusúak dominálnak. Szinte **minden gerincesből** sikerült izolálni őket. Kísérleti rendszerekben a madarak és egerek szarkómavírusait, valamint a macskák, egerek, madarak és az ember leukémiavírusait vizsgálták. A retrovírusokat feloszthatjuk **exogén és endogén retrovírusokra** is. Az exogén retrovírusok horizontálisan terjednek, és tipikus fertőző vírusként viselkednek. Csak sejtbe kerüléssel okoznak fertőzést és transzformációt. A patogén retrovírusok mind exogének, és csak a fertőzött sejtekben vannak jelen. Velük szemben az endogén retrovírusok egy adott species összes egyedének minden sejtjében előfordulnak, rendszerint nem patogének a gazdaszervezetre, és nem okoznak betegséget.

(vi) A **DNS-tumorvírusok** transzformáló génjeinek működése szükséges replikációjukhoz. (Az RNS-tumorvírusoknál a bennük lévő celluláris onkogéneknek semmi szerepük sincs a vírusszaporodásban!) A DNS-tumorvírusok transzformáló fehérjéi komplexet képeznek **tumor-szuppresszor gének** (**Rb**, retinoblastoma gén;

p53 gén) által kódolt normál sejtfehérjékkel, és azok funkcióját befolyásolják. A tumor-szuppresszor gének (vagy „anti-onkogének”) negatív regulátorai a sejt növekedésnek. (E gének mindkét alléljának inaktivációja vagy funkcionális elvesztése szükséges a tumor kialakuláshoz. A p53 a humán daganatok legalább 50%-ában érintett.) A DNS-tartalmú vírusok öt családjában (*Papovaviridae*, *Adenoviridae*, *Herpesviridae*, *Poxviridae* és *Hepadnaviridae*) található DNS-tumorvírusok.

3.12. Szubvirális ágensek

(i) **Viroidok.** Olyan kis fertőző elemek, melyek a klasszikus vírusdefiníciónak nem felelnek meg. Csak **növényeket betegítenek** meg; eddig, sem állatban sem emberben nem mutatták ki őket (pl.: *PSTVd*, potato spindle tuber viroid; *CCCVd*, cadang-cadang coconut viroid; *ASSVd*, apple scar skin viroid, stb.). **Fehérjeburok** (kapszid, envelope) **nélküli nukleinsav-molekulák** (molekulatömegük: 70 000–120 000). A viroidok egyfonalú, kovalensen zárt, cirkuláris RNS-molekulák, melyek kb. 200–400 nukleotidból állnak, és a bázispárok másodlagos rúdszerű struktúrát alkotnak. Teljesen egyedi mechanizmussal szaporodnak a sejtben (a gazdasejt RNS-polimeráz II-t használják); obligát intracelluláris paraziták. A viroid RNS **semmilyen fehérjét nem kódol**, de néhányuk ribozim aktivitása (önhasítás) van. A viroidok vegetatív úton, vektorral vagy mechanikusan vihető át egyik növényről a másikra.

(ii) **Szatellita vírusok és vírusoidok (szatellita RNS-ek).** Kis RNS molekulák, melyek szaporodásukat tekintve abszolút **függnek egy másik vírus** (helper) **jelenlététől.** (Tehát még a vírusoknak is megvannak a maguk parazitái!) Viroidokhoz hasonló egyfonalú, cirkuláris, erősen bázispárfüggő struktúrájuk van. A viroidoknál kissé nagyobbak (kb. 500–2 000 nukleotid), és **néhány fehérjét kódolni tudnak.** Replikációjuk és kapszidációjuk gazdavírusfüggő (mint passengerek kerülnek a víruskapszidba). Nincs – vagy csak minimális – nukleotid szekvenciahasonlóság a szatellita és a helper vírus genomjai között. A szatellita replikációja rendszerint interferál a helper vírus szaporodásával. Jelenlétük a tüneteket gyengíti vagy erősíti. A legtöbb szatellita növényi vírussal együtt fordul elő, de néhány bakteriofágokkal és állati vírusokkal segíti elő szaporodását. **Két csoportba** sorolják a szatellitákat: **1.) Szatellita vírusok**, melyek saját burokképleteiket kódolni tudják, és **2.) vírusoidok**, szatellita RNS-ek, melyek a segítő (helper) vírus burokképletjét veszik fel. Az összes eddig leírt vírusoid RNS ribozim aktivitással rendelkezik. **[Megjegyzés: A Hepatitis Delta Virus /HDV/ mind szatellita vírus (helper HBV vírust igényel szaporodásához, HBV köpenyfehérjébe csomagolódik, δ antigént kódol), mind viroid tulajdonságokkal rendelkezik (viroidok centrális régiójának megfelelő szekvencia-homologitást mutat.)]**

(iii) **Prionok.** Az idegrendszernek több olyan átvihető, krónikus, progresszív megbetegedése ismert az állatoknál és az emberben, ahol konvencionális fertőző ágens nem sikerült igazolni. 1982-ben Stanley Prusiner vezette be a **prion** fogalmát (proteinaceous infectious particle) és írta le, hogy a ma összefoglalóan **átoltatható spongiform encephalopathiáknak** (TSE, transmissible spongiform encephalopathies) nevezett kórképek hátterében egy **fertőző fehérje** áll. A normális emberi és állati sejt kromoszómájában genetikailag kódolt prion fehérjék (PrP^c), a többi sejtfehérjéhez hasonlóan, a sejt transzkripció és transláció mechanizmusa által termelődnek. Ezek a kis molekulású PrP^c-k (28–33 kDa prekursor fehérjék) glikozilálódnak, majd glikolipid részükkel beágyazódnak a sejtmembránba, és feltehetőleg az idegsejtek membránjai közötti kapcsolatokban játszanak szerepet. A „normál” PrP^c-k átlag 2–5 órás felezési idővel áldozatul esnek a sejt fehérjeemésztő enzimjeinek, ezért fiziológiai körülmények között sejten belüli felhalmozódásukat nem figyelték meg. A PrP^c génen is bekövetkezhetnek mutációk, melyek hatására az eredeti alfa-helix szerkezeten belül bétaláncok alakulnak ki. E konformációs változást nem tekintve, a változatlan összetételű prionmolekula most már ellenáll a proteínáz enzimeknek, és fibrillumok formájában felhalmozódik a sejtekben. A TSE-ben megfigyelhető amyloid-felhalmozódás, vakuolizáció valószínűleg a felhalmozódó fibrillumok sejtkárosító hatásának a következménye. A kialakult ellenálló kóros PrP-molekulák, amelyeket a scrapie-megbetegedésekben (juhok súrlókórja) találtakra utalva PrP^{Sc}-nek (Scrapie prion protein) neveznek, a „normál” PrP^c-vel ellentétben, már képes áthatolni a sejtmembránon, kapcsolatba lépni az egészséges sejt által termelt „normál” PrP-molekulákkal és azokat a saját képmására átalakítani. A sejt „észleli” a PrP^c hiányát, és igyekszik rögtön abból többet termelni, de a PrP^{Sc} hatására azok mind kórossá alakulnak, és a sejt megállíthatatlanul elpusztul.

A **prion megbetegedésre jellemző**, hogy minden esetben **halálos, hosszú inkubációs ideje van, nincs gyulladás** az elváltozás helyén és **nincs immunválasz** sem. A betegséget csak klinikai alapon egyértelműen nem lehet diagnosztizálni; szükség van a post-mortem agyszövet szövettani, immunhisztokémiai vizsgálatára, esetleg molekuláris genetikai és transzgenikus állatokban végzett vizsgálatokra is.

Több **állati prionbetegséget ismerünk**, melyek közül a **scrapie** (súrlókór) már 200 éve ismert, természetesen megjelenő betegsége a juhoknak (és kecskéknak). Nevét arról kapta, hogy a beteg állatok erősen dörzsölik magukat kerítéshez, oszlopokhoz. A világon több helyen előfordul. Intenzíven vizsgált betegség. Az 1986-ban Angliában először észlelt **szarvasmarhák szivacsos encephalopathiája** (BSE, bovine spongiform encephalopathy) pedig 1996-tól járványos méreteket öltött, és napjainkban a gazdasági veszteségen túl, a BSE emberre való veszélyességének kérdése vált elsőrendűvé.

Emberben megjelenő prionbetegségek közül a **Kuru** (nevető halál) az 1950-es években Pápua-Új Guinea magasföldi törzseiben jelentkezett, de a kannibalizmus felhagyásával ma már alig fordul elő. A **Creutzfeldt-Jakob betegség** (CJD) korábban is ismert három formája (**sporadikus, iatrogen/szerzett és familiáris**) mellett az 1996-tól Angliában a **CJD új variánsa (vCJD)** jelent meg. Noha nincs egyértelmű bizonyíték, de ezeket az eseteket a BSE tömeges fellépésével hozzák kapcsolatba, és intenzív vizsgálatok folynak az eddig nem észlelt betegség hátterének tisztázására. A prionok extrém ellenállóképességének tudatában és a tünetmentes inkubációs időtartam ismeretében hiányában az egészségügyi beavatkozások (transzfúzió, transzplantáció, eszközös beavatkozások, stb.) veszélyét már felvetették.

Élesztőgombában is találtak prionszerű szaporodásra képes fehérjét (Sup35).

3.13. A gazdaszervezet védelmi mechanizmusai Interferonok

A gazdaszervezetnek a vírusokkal szembeni védelmi mechanizmusai nem-specifikusak (nem-fajlagosak) és specifikusak (fajlagosak) lehetnek.

(i) **Nem-specifikus védelem.** A legtöbb szervezet nem-immunológiai **barrierrel** is képes a vírusokkal szemben magát védeni (a kültakarón, a **bőrön** keresztül csak sérülés, klinikai elváltozás, vektor révén képes a legtöbb vírus bejutni; a membránokon lévő **nyák**, a **csillószőrök** mozgása távol tartja, eltávolítja a vírusok egy részét; a gyomor **savas pH**-ja, az **epe** lipidoldó képessége, a **bélmozgás**, a **vizelet** mosása, a **könny** szintén víruseltávolító lehet). A **fagocitózis** különösen fontos lehet (**granulociták** és **makrofágok**). Amikor a fagocitózist antitestek és komplement is fokozza, **opszonizációról** beszélünk. A növényeknél megfigyelt ún. természetes rezisztencia hátterében **proteázok, peroxidázok** vannak, melyek a vírusokat elroncsolják, lokális elváltozást eredményezve, és a szisztémás megbetegedést megakadályozva.

(ii) **Specifikus immunológiai védelem. Két típusú lehet: 1.) humorális**, amikor vírusneutralizáció a következmény (protektív immunitás), és **2.) sejtes, celluláris**, amikor a vírusfertőzte sejtek eliminálódnak.

Humorális antitestválasz. Más mikroorganizmusokhoz hasonlóan a vírusok is antitesttermelést váltanak ki. Az antitestek immunglobulinok, a plazma sejtek termelik őket. Az **IgM** típusú antitestek termelődnek legelőször, kb. 1 héttel a fertőzés után. Átlagosan 4–6 hétig, de bizonyos esetekben hosszabb ideig is jelen lehetnek. **IgG** típusú antitestek később termelődnek mint az **IgM** típusúak, és gyakran évekig perzisztálnak. A reinfekciókkal szembeni immunitást adják. **IgA** antitestek közül a szekréciókban előforduló (sIgA; nyál, légutak, könny, bélmucosa) jelentik

a legfontosabb védelmet a légúti és gasztrointesztinális vírusokkal szemben. **Antivirális hatás** lehet **neutralizáció**, amikor a specifikus ellenanyag közömbösíti a vírus fertőzőképességét (akár életre szólóan), és **antitestfüggő sejtközvetítette citotoxikus hatás**.

Sejtes immunválasz. Fontos szerepet játszik a vírusfertőzte sejtek eliminálásában. Háromfajta thymus dependens T-limfocita, a segítő (**helper, CD4**) **T-sejtek**, a **szuppresszor (CD8) T-sejtek**, és a **citotoxikus T-sejtek** szerepe döntő. A vírust mint antigént a helper T-sejtek ismerik fel, amikor azt a makrofágok vagy a dendritikus sejtek prezentálják. A helper T-sejtek stimulálják a citotoxikus celluláris reakciót és aktiválják az antitesttermelésért felelős B-limfocitákat citokineken keresztül. A szuppresszor T-sejtek kontrollálják és szabályozzák a citotoxikus sejtes választ a helper T-sejtek visszaszorításával. Végül a citotoxikus T-sejtek a legfontosabbak a vírusfertőzte célsejtek elpusztításában. A **sejtlízis** egyrészt végbemehet **antitestektől függetlenül, direkt módon** (citotoxikus T-sejtek, természetes ölü sejtek /NK/), és **antitestektől függően** (antitestfüggő celluláris citolízis /ADCC/; ölü sejtek /K/, polymorphonuclearis fehérvérsejtek, aktivált makrofágok).

(iii) **Interferonok (IFN).** Sejtek által termelt fehérjék, citokinek, amelyek a sejteket a vírusfertőzéssel szemben ellenállóvá teszik. Háromféle interferont különböztetünk meg: a leukociták által termelt alfa-, a fibroblasztokból nyert béta-, és a T limfociták termelte gamma-interferonokat. Az IFN-ek a sejtekre és az immunrendszerre, valamint a vírusreplikációra antiproliferatív hatásúak. A háromféle IFN egymástól antigenitásban és biológiai aktivitásban is eltér. Az alfa- és béta-IFN antivirális hatása kifejezettebb mint a gamma-IFN-é, ugyanakkor immunmoduláns hatása elsődlegesen a gamma-IFN-nek van. Az interferonok a sejt felszínén specifikus receptorokhoz kötődnek (az alfa- és béta-IFN receptora közös), és szignáltranszdukció révén különböző reakcióutakat aktiválnak, és ezáltal különböző gének expresszióját idézik elő. Az interferonok gazdaspecifikusak (a humán sejtekre csak a humán interferon teljes hatékonyságú); széles antivirális spektrumuk van; vírusok, nukleinsavak, mitogének indukálják őket; mind a vírus transzkripcióját, mind a fehérjeszintézist gátolják; gyorsan (< 48 óra) megjelennek a vírusfertőzést követően. Az IFN-nek antiproliferatív, tumorelleses aktivitása is van, és más mikroorganizmusok szaporodását is gátolni képesek. Az interferongének izolálása, expressziója lehetővé tette az IFN-ek génszintézeti előállítását. A gyakorlatban elsősorban a krónikus *HBV*- és *HCV*-fertőzések kezelésében használnak IFN-t.

Növényekben is a vírusfertőzés után nagyon hamar több új fehérje keletkezik, melyek zömmel proteázok, roncsolják a vírusfehérjéket és akadályozzák a vírus terjedését.

3.14. Vírusok elleni aktív és passzív védekezés

A vírusfertőzések megakadályozásában, csökkentésében kiemelkedő szerepe van az **általános emberi, állat- és környezeti higiénés intézkedéseknek** a fertőző betegségek kontrollján át a víz, a táplálék, a levegő és talaj szennyeződésének kiküszöböléséig. A növényi vírusfertőzések elleni küzdelem is mindig **integrált** (genetikai, agrotechnikai és kémiai) **védekezést** jelent. Ugyanakkor az emberek, az állatok és a növények egyedi szintjén közvetlenül is módunk van védekezni a vírusok ellen.

Vírusvakcinák. A vírusellenes szerek egyre szaporodó száma mellett is a vírusfertőzésekkel szemben a leghatásosabb védekezést a vakcináció jelenti. Ilyenkor a **szervezetbe juttatott vírus/vírusantigén(ek) ellen a szervezet immunrendszere aktívan immunválasszal reagál.** A súlyos vírusinfekciók esetében ez a legolcsóbb módszer is.

(i) **Általános elvek.** A vírusfertőzéssel szembeni immunitás a víruspartikulák vagy a vírusfertőzte sejt felszínén megjelenő specifikus antigének elleni immunválaszon alapul. A burokkal rendelkező vírusoknál a felszíni glikoproteinek a fontos antigének. (A core fehérjékkel, nem-strukturális fehérjékkel szemben megjelenő ellenanyagoknak kicsi a szerepük az infekcióval szembeni rezisztenciában.)

Az egyes vírusfertőzések patogenezise hatással van az immunprofilaxis kialakítására. A mucosális membránokon szaporodó vírusok esetében (*Rhinovírusok*, *Influenzavírusok*, *Rotavírusok*) döntő a fertőzés elleni védekezésben a mucosális-immunitás, a lokális szekretoros IgA. A véráram útján (virémia) terjedő vírusoknál (*Polio*-, *Hepatitis*-, *Kanyaróvírus*) a keringő szérumban lévő ellenanyagok a fontosak. Sejtközvetített immunitást kell elérni szisztémás fertőzések kivédésére (kanyaró, herpesz).

Sem a vakcináció, sem a természetesen átvészelt fertőzés nem vezet mindig teljes védettséghez ugyanazzal a vírussal történt későbbi fertőzés esetében. Elégséges sokszor az is, hogy a vad vírus terjedését a szervezetben sikerül meggátolni (pl. poliovírus, kanyaróvírus idegrendszerre, vagy a rubeolavírus embrióra terjedését).

Bizonyos vírus vagy vírusfertőzés jellemzői komplikálhatják egy hatásos vakcina létrehozását (pl. rhinovírusok esetében túl sok a szerotípus; influenzavírusoknál széles az állati reservoir-kör; retrovírusoknál a vírusgenom integrálódik a sejtgenomba; HIV-nél nehézséget okoz a fertőzés vírusantigéneket nem expresszáló sejtekkel való átvitele.)

(ii) **Inaktivált, előlt vírusvakcinák.** A tisztított víruspreparátumot úgy igyekeznek inaktiválni, pl. enyhe formalinkezeléssel, hogy a vírus felszíni antigénjei a legkevésbé károsodjanak. A vírus burokkfehérjéi ellen elsősorban szérumantitestek termelődnek. Néhány betegség ellen csak előlt vakcinával rendelkezünk. **Előnye** az ilyen oltóanyagok, hogy nem kell tartani az attenuált vírus esetében esetleg fellépő viru-

lens vírus megjelenésétől. **Hátránya** viszont, hogy **1.)** biztosítani kell, hogy élő vírus ne maradjon a vakcinában, **2.)** indukált immunitás rövid tartamú, ismételt oltásokra van szükség (booster), **3.)** lokális mucosa-immunitást nem indukál, **4.)** sejtközvetített immunitás gyenge, **5.)** túlérzékenységi reakciót indukálhat későbbi fertőzésnél.

(iii) **Attenuált élő vírusvakcinák.** Az élő vírusvakcinák olyan mutáns vírusokat tartalmaznak, amelyek antigenitásukat tekintve a vad vírussal megegyezők, de a betegségkötő képességük csökkent vagy hiányzik. Korábban természetesen attenuálódott, vagy szövettényeszetekben, állatokban sorozatoltásokon keresztül szelektált, növényeknél kémiai szerekkel gyengített vírusokat alkalmaztak. Jelenleg specifikus, tervezett genetikai manipulációval is előállíthatók alkalmas vírustörzsek. Az attenuált vakcina **előnye:** **1.)** természetes fertőzésnek megfelelő immunválaszt produkál, **2.)** hosszabb időtartamú ellenanyagválaszt vált ki, **3.)** jó sejt közvetített immunválasz alakul ki, **4.)** lokális IgA-ellenanyagokat is indukál. **Hátránya:** **1.)** virulens vírus megjelenésének lehetősége az attenuált vírus multiplikációja során, **2.)** fel nem ismert ágensek bevitel a szervezetbe a tenyésztőrendszerből (pl. SV40-vírus a korai poliovakcinában), **3.)** a vakcinavírus esetleg perzisztens fertőzést produkálhat, **4.)** tárolási probléma (hűtési lánc), **5.)** interferencia természetesen megjelenő vad vírussal.

Hangsúlyozni kell, hogy egy vakcináció csak úgy hatásos, ha megfelelő életkorban, dózisban, és időközökkel történik az oltás.

(iv) **A jövő vakcinái.** A molekuláris biológia és a modern technológia új típusú vakcinák előállítását teszi lehetővé, melyek közül néhány már alkalmazást is nyert. **1.)** vírusattenuálás genetikai manipulációval (deléciós mutánsok), **2.)** avirulens vírusvektorok használata (pl. vaccinia-vírusba ültetett, az immunizálás szempontjából fontos fehérjéket kódoló gének), **3.)** klónozott génekkel termelt fehérjék (pl. az élesztőgombával előállított HBV felszíni antigén vakcina), **4.)** szintetikus peptidok (influenza, HBV; kevésbé hatásosak), **5.)** alegység-vakcinák (pl. influenzánál a vírusból csak a hemagglutinin alkalmazása), **6.)** DNS-vakcinák (antigént kódoló DNS sejtbe juttatása), **7.)** vakcina lokális adása (pl. aerosol vakcinák).

Vírusrezisztens növények előállítását a hagyományos növénynevelés (rezisztenciára nemesítés) is lehetővé tette, de a molekuláris technika (biotechnológiai növénynevelés) felgyorsította. Transzgenikus növények rekombináns vírusfehérjéket vagy nukleinsavakat képesek expresszálni, melyek interferálnak a vírusreplikációval anélkül, hogy a fertőzésnek patogén következményei volnának. (Kipróbálásra került már: **1.)** virális burokfehérjékkel a fertőző vírus dekapzidációjának gátlása, **2.)** antisense RNS-ek, **3.)** defektív vírusgenomok, **4.)** szatellita-szekvenciák, **5.)** katalitikus RNS-szekvenciák/ribozimok.) Ezek az ígéretes, de még csak a kezdeteknél tartó technológiák kiválthatják a drága, toxikus, környezetet károsító kemikáliák használatát úgy, hogy jelentősen növelhetik egyben a mezőgazdaság termelékenységét.

(v) **Passzív immunizálás.** Lényege: **kész ellenanyagok** (immunglobulinok) **bevitel a szervezetbe.** A bevitt ellenanyagoktól csak a fertőzési folyamat egy bizonyos pontjáig várható hatás, azon túl azt már nem befolyásolják (**preventív hatás**). Esetleges gyógyító hatásuk egyes esetekben azért lehet, mert a sejtekhez még nem kötött kórokozó ágens semlegesítésével a betegség további progressziójának elejét vehetik. Az ellenanyagok védő hatása adagiuktól és alkalmazásuk időpontjától függően a **fertőzési folyamat teljes gátlásában**, a **fertőzés látenssé tételében** vagy a **klinikai tünetek enyhítésében** nyilvánul meg. A passzív immunizálás **immunszuppresszív hatású lehet:** az ellenanyagok bizonyos koncentráción felül, főleg élő vakcinák esetében – az aktív immunizálást meggátolják. (Kisebb koncentráció mellett az aktív immunizálás lehetséges.) **Tisztított állati** (szarvasmarha, birka, ló) **hiperimmunsavókat** és **humán plazmából** készült **immunglobulin (IG)-készítményeket** használnak. Emberi használatból az állati szérumok az ismételt adáskor jelentkező anafilaxiás sokk veszélye miatt kiszorultak. A humán immunglobulin-készítményeket **normál** (legalább 1000 donor kevert plazmájából készül; a népesség átlagos ellenanyagszintjének megfelelő) és **specifikus** (egy-egy kórokozóval szemben kimagasló titer mutató plazmákból preparálják) **IG formában** állítják elő. Minden esetben az IG-készítményeket ismert kórokozók jelenlétére szűrve, több **szigorú** inaktiválási lépést alkalmazva, az intramuscularis (Cohn-féle alkoholos frakcionálással készítve) vagy intravénás alkalmazás biztosítását lehetővé tevő **technológiával** (enzimes, savas kezelés, szelektív adszorpció) állítják elő.

BIRÓ SÁNDOR

4. PROKARIÓTÁK



4.1. A prokarióta sejt általános jellemzése

A prokarióta mikroorganizmusok a legegyszerűbb sejt szerveződésű élőlények. Sejtjeik szerveződésére az jellemző, s erre utal elnevezésük is, hogy nem rendelkeznek valódi, magmembránnal körülhatárolt sejtmaggal (karyon = mag, prokaryon = sejtmag előtti), szemben az összes többi sejt szerveződésű élőlényel (eukarióták), melyeknek sejtmagját a citoplazmától magmembrán határolja el. Egyszerűbbek továbbá azért is, mert sejtjeikből hiányoznak az eukariótákra jellemző, különböző funkciók ellátására differenciálódott sejtalkotók (mitokondrium, kloroplaszt, endoplazmatikus retikulum, Golgi-hálózat, lizoszómák stb.). Első fajaik az evolúció során mintegy 3,5 milliárd évvel ezelőtt jelentek meg, ami magyarázza az egyes fajok közötti rendkívül nagy eltéréseket mind szerkezetük, működésük, mind pedig alkalmazkodóképességük tekintetében. A prokarióták közé az **ősbaktériumok** (*Archaeobacteria*) és a valódi baktériumok (*Eubacteria*) tartoznak. A prokarióta fogalom a baktérium fogalmának szinonimája, s a továbbiakban felváltva használjuk.

4.1.1. A baktériumsejtek mérete, és fénymikroszkópos morfológiája

A baktériumok mérete általában a μm -es mérettartományba esik, bár egyes baktériumok mérete ennél lényegesen nagyobb, vagy kisebb is lehet. Így például a *Spirochaeta* és *Spirillum* fajok hosszmérete a $100 \mu\text{m}$ -t is eléri, míg a *Rickettsia* és *Mycoplasma* fajok sejtjei oly kicsinyek, hogy a szokásos baktériumszűrőkön ($0,2\text{--}0,4 \mu\text{m}$) átmennek.

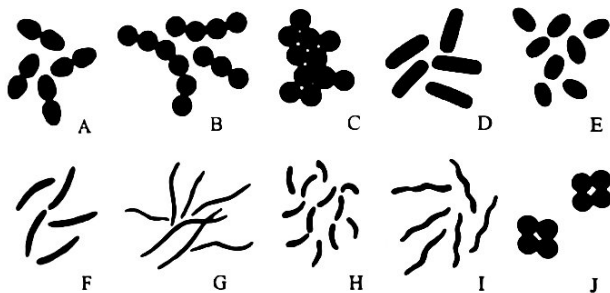
Általában egysejtűek, bár a sejtek gyakran összetapadnak, s különböző alakú csoportosulásokat hoznak létre. Ekkor is igaz azonban az, hogy minden egyes sejt rendelkezik az alapvető életfunkciókkal, mint a szaporodás és önálló metabolizmus képessége.

Alakjukat a sejtfa határozza meg. Alak szerint két fő csoportba oszthatók. A gömbölyded sejteket **kokkusznak** (**coccus**), míg a hosszúkás hengerszerű sejteket **pálca** alakúaknak (**bacillus**) nevezzük. A két alapvető formának természetesen sok változata van, a kettő közötti átmeneti alakok is léteznek, s ezek különböző csoportosulásokat is alkothatnak. Ha a pálca rövid, **kokkobacillusnak**, ha pedig görbült **vibrionak** nevezzük. A hosszabb merev, dugóhúzó szerű formát **spirillumnak**, a hasonló formájú, de hajlékonyabb, inkább rugóra emlékeztető formákat **spirochaetának** hívjuk. Egyes fajok alakja az élőhelytől, illetve a tenyésztési körülményektől függően változik. Ezt hívjuk **pleomorfizmusnak**. Így a *Corynebacterium diphtheriae* a pálca alak mellett bunkós pálca, vibrio, kokkusz és fonalas formát is felvehet. Hasonló extremitás jellemző a sejtfa nélküli *Mycoplasma*-sejtek alakjára is.

A sejtcsoportosulások alapján további megkülönböztetés lehetséges (4.1. ábra). A mindig elkülönülten megjelenő kokkusz a **monokokkusz**, a párban megjelenő a

diplokokkusz, míg a négyes csoportokat **tetrádnak** hívjuk. Szabálytalan, szőlőfürtszerű csoportot alkotnak a **sztafilokokkuszok** (*Staphylococcus*), illetve hosszabb-rövidebb láncot a **sztreptokokkuszok** (*Streptococcus*). A szabályos, nyolc, tizenhat vagy még több sejtből álló csomagokat **szarcinanak** hívjuk. A pálcá alakúakra ez a sokféle csoportosulás nem jellemző, mivel ezek csak egy síkban, a pálcá hossz tengelyére merőlegesen osztoznak, így ezek legfeljebb párban (**diplobacillus**) vagy láncot alkotva (**streptobacillus**) fordulnak elő. Szabálytalan, töredezett fűrészfogakhoz hasonló, ún. **paliszád** elrendeződést mutatnak a már fentebb említett *Corynebacterium* fajok.

A prokarióták jellegzetes sejtszerkezetének megismerését az alábbiakban a sejt-felszínről a sejt belseje felé haladva tárgyaljuk. Ennek során tárgyaljuk a sejt-függelék, a sejt-fal, sejt-membrán és citoplaszma szerkezetét, különös tekintettel azokra a vonásokra, melyek csak a prokarióta sejtekre jellemzőek. Ismereteink elsősorban az eubaktériumok vizsgálatából származnak. Amennyiben ősbaktériumokra vonatkozó adatokat közlünk, azt esetenként hangsúlyozzuk.



- | | |
|--|--|
| A. diplokokkusz | F. fuziform bacillus |
| B. sztreptokokkusz (kokkuszok láncszerűen) | G. fonalas baktérium (<i>Streptomyces</i>) |
| C. sztafilokokkusz | H. vibrio (hajlott pálcá) |
| D. pálcá vagy bacillus | I. Spirillum/Spirocheta |
| E. kokkobacillus | J. szarcina (sejtek csomagszerű elrendeződése) |

4.1. ábra: A baktériumok csoportosítása alak és elrendeződés szerint

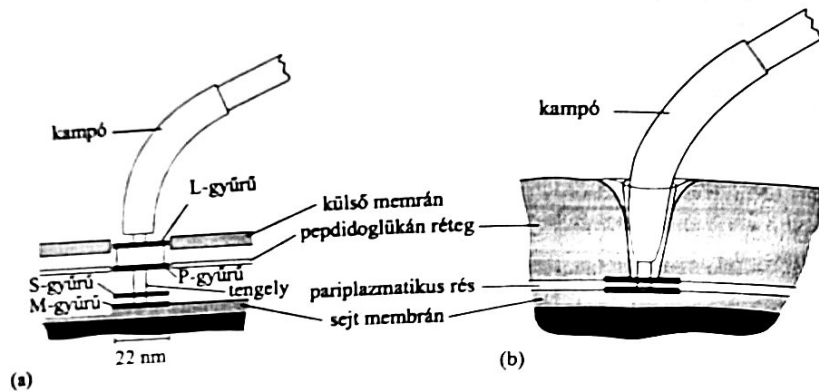
4.2. A prokarióták felszínének szerkezete

A prokarióták felszínéhez kapcsolódva, abból mintegy kinyúlva található szerkezeteket két csoportba sorolhatjuk. A **flagellumok** (ostorok és csillók) az aktív mozgást, a **pilusok** és **fimbriák** pedig a sejtek tapadását szolgálják.

4.2.1. Flagellumok

Nem minden baktérium rendelkezik flagellummal. Ezek az **atrich** baktériumok. Flagellummal rendelkezik minden *Spirillum* faj, a pálcáalakúak mintegy fele, és néhány kokkusz. Ezeket a flagellum elhelyezkedése és száma alapján különböztetjük meg. Egyetlen polarizált elhelyezkedésű flagellum esetén **monotrich**, több polarizált elhelyezkedésű flagellum esetén **lophotrich** baktériumról beszélünk. Amennyiben a sejt két ellentétes pólusán egy-egy flagellum van **amphitrich**, ha több, **amphilophotrich** megnevezést használunk. A **peritrich** baktériumok pedig teljes felszínükön egyenletes eloszlásban hordozzák a flagellumokat. A flagellumok száma és elhelyezkedése a baktérium folyadékban való mozgékonyágát lényegesen befolyásolja. A baktériumok azonosításához a flagellumok számának és elhelyezkedésének meghatározása szükséges, ami vagy speciális festés után fénymikroszkópban vagy elektronmikroszkópban lehetséges. Gyakran elégséges azonban annak az eldöntése, hogy egy baktérium motilis (mozgékony) vagy sem. Ez az ún. függőcepp módszerrel fénymikroszkópban, vagy lágy agar felületére való kioltással lehetséges. A lágy agar felületén a csillós baktériumok nagy, szétterülő, szabálytalan telepet alkotnak. Ennek a telepnek a megjelenési formájára utal a hauch (lehelet) német szóból eredően a csilló antigén elnevezése, melyet **H antigénnek** neveznek.

A flagellumok flagellin fehérje monomerekből épülnek fel helikális elrendeződés szerint, egy csőszerű képletet alkotva. Ennek alakja egy L alakban meghajlított csőhöz hasonló, amely a rövidebb szárával a sejt-falon áthatolva kapcsolódik a sejt-membránhoz. A sejt-falban és a membránban is gyűrűszerű képletekbe, mintegy csapágyba vannak beágyazva, amelyek a forgásokat biztosítják (4.2. ábra). Az ostor mozgásához a citoplazmamembrán két oldala között fennálló protongrádiens szolgáltatja az energiát. Egyenletes, egyenesvonalú mozgás esetén az ostor az óramutató járásával ellentétesen forog, a baktériumsejtek pedig az óramutató járásával megegyezően forogva haladnak előre. Az ostor óramutató járásával megegyező irányú forgása a baktériumsejtek bukdácsoló mozgást kölcsönöz, ezzel teremtve meg az irányváltoztatás lehetőségét. **Kemotaxis** során a **kemoreceptorok** által felfogott szignálok (itt nem részletezett módon) egy szignáltranszdukciós rendszeren keresztül az ostor forgatását végző „motor” működését szabályozzák, ezzel téve lehetővé a mozgás irányának és sebességének meghatározását. Érdekes, hogy a baktériumok



4.2. ábra: Flagellumok csatlakozása a sejtfalhoz és a citoplazma-membránhoz
a.) Gram-negatív baktériumokban; b.) Gram-pozitív baktériumokban

mozgási irányuk meghatározásánál nem a két különböző irányból egyszerre érkező jeleket hasonlítják össze, hanem mozgás közben a különböző pozíciókban érzékelt jelekre „emlékeznek”, s ezeket hasonlítják össze.

A *Spirochaeták* mozgásukat ún. **endoflagellum** segítségével végzik, amely lényegében a külső ostorhoz hasonló szerveződésű képlet, mely a spirális baktérium membránján, a periplazmatikus térben körbefutva, a sejtest két végén rögzül. Forgásával a sejtet sajátos rotáló mozgásra készíti.

4.2.2. Pílusok és fimbriák

A **pílus** és **fimbria** elnevezést egyes szerzők szinonimaként használják. Célszerű azonban őket funkció szerint elkülönülten használni.

A **fimbria** rövid, serteszerű képlet, melyek funkciója az egymáshoz és más felületekhez való tapadás. Szerepük van egyes baktériumok **patogenitásában**, mivel ezekkel tapadnak meg a gazdaszervezet szöveteihez.

A **pílusok** hosszabb csőszerű, rigid képletek (4.3. ábra), amelyek a baktériumok közötti **konjugációt** (genetikai állományuk átadása más sejteknek) biztosítják. Tapadási funkciójuk ezeknek is van, hiszen a pílust növesztő (donor) sejt hozzátapad a pílussal a recipienshez, s a csőszerű képleten keresztül a donorból a recipiensbe DNS jut át. A nagyobb számban található **I pílus** az antibiotikum rezisztencia és **bakteriocinogén faktorok** átvitelében játszik szerepet, míg a sejtneként csak 1-2 példányban előforduló **F pílus** a baktériumok „**sex faktorának**” az F plazmidnak az átjutását biztosítja. Mindektettő szintéziséért a plazmidon található gének felelősek.



4.3. ábra: Konjugáció E. coli sejtek között
A donorsejt, melyet számtalan I pilus borít, egyetlen F pilussal (sex pilus) kapcsolódik a recipienshez

A baktériumsejteket egy kémiai és szerkezetében is komplex burok veszi körül, mely kívülről befelé haladva három réteget – glikokalix, sejtfal és sejtmembrán – tartalmaz.

4.2.3. A glikokalix

Igen sok baktérium termel különféle szerves polimereket, amelyek kívülről a sejtfalra rakódnak. Ha ennek szerkezete laza, akkor **nyálkaburoknak** nevezzük. Ha a glikokalix szerkezete kompaktabb, vastagabb, a sejtfalhoz is kapcsolódik, akkor **toknak** nevezzük. Ezek részben a kiszáradástól védik a sejteket, de tartalék tápanyagnak is tekinthetők. A glikokalix termelése nem minden baktériumra jellemző, és nem létfontosságú, mivel azon sejtek, melyek mutáció következtében elveszítik tokképző sajátosságukat, változatlanul életképesek. A tok funkcionálhat vírusreceptorként, szerepe van a patogén baktérium védelmében a gazdaszervezet fagocitáival szemben, és segíti megtapadásukat a növény vagy emlős szöveteken. Kémiaiilag poliszaharid, fehérje, vagy fehérje-lipopoliszaharid komplex. A tok megléte vagy hiánya jelentősen befolyásolja a telepmorfológiát. A tokos baktériumot az angol smooth (sima) szóból eredően **S-variánsnak**, a tokot nem képezőket pedig durvább felszíne miatt (rough = durva) **R-variánsnak** is nevezik. Egyes baktériumok olyan

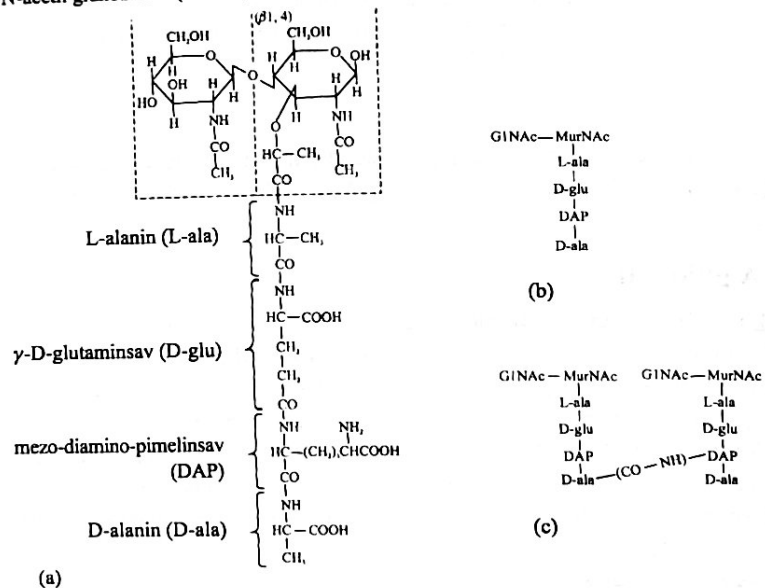
nagy mennyiségben termelnek tokanyagot, hogy ipari termeltetésre is használják őket. Ilyen a *Leuconostoc mesenteroides* által termelt dextrán (α -1,6 kötéseket tartalmazó poli-glükóz), a *Streptococcus salivarius* által termelt leván (β -2,6 kötéseket tartalmazó poli-fruktóz), vagy a *Xanthomonas* nemzetség által termelt xantán (β -1,4 kötéseket tartalmazó poli-glükóz, melyben minden második glükózhoz mannóz, acetilmannóz, vagy glükuronsav kapcsolódik).

A tokanyagok antigénként viselkednek, **K antigénként** vagy **virulencia anti-génként** ismeri a szakirodalom.

4.3. A sejtfa

Közvetlenül a glikokalix alatt elhelyezkedő réteg a sejtfa. (A *Mycoplasma*-csoportot kivéve minden baktériumot sejtfa határol.) A sejtfa egy rigid szerkezet, amely meghatározza a baktériumsejt alakját, s megőrzi a sejt integritását a változó környe-

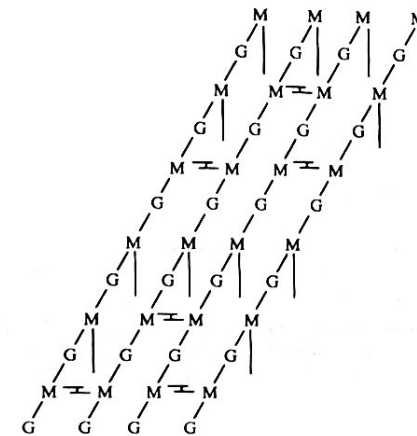
N-acetil glükózamin (GINAc) N-acetil muraminsav (MurNAc)



4.4. ábra: A peptidoglükán sejtfa szerkezete. a.) Mezo-diamino-pimelinsavat tartalmazó (keresztkötiéseket közvetlenül létrehozó) peptidoglükán-egység szerkezete. b.) Mezo-diamino-pimelinsavat tartalmazó (keresztkötiéseket közvetlenül létrehozó) peptidoglükán-egység egyszerűsített vázlata. c.) A keresztkötés kialakulásának vázlata egyik peptidoglükán-egység terminális D-alaninja és egy másik egység diamino aminosava (diamino pimelinsav) között.

zeti ozmotikus viszonyok mellett is. A sejtfa ezen sajátosságait egy különleges molekulának, a **peptidoglükánnak** köszönheti. (Peptidoglükán csak az *Archaeobacteriumok* és *Planctomycesek* sejtfalában nem található.) *Eubaktériumokban* a peptidoglükán egy olyan térhálós óriásmolekula, amely alternáló **N-acetil glükózamin (NAG)** és **N-acetil muraminsavból (NAM)** felépülő glükánból, és a glükánláncok között keresztkötiéseket létrehozó rövid peptidekből épül fel (4.4. és 4.5. ábra). Ezt **mureinnek** is nevezik. A keresztkötiő peptidek szerkezete az egyes baktériumcsoportokban eltérő. Ez alapján A és B csoportba tartozó mureint egyes bõztetünk meg (4.6. ábra). Ezenkívül a peptidoglükánhoz a különböző baktériumokban még egyéb anyagok is kapcsolódnak.

Több mint 100 évvel ezelőtt, még mielőtt a baktériumsejtek szerkezetéről egyáltalán fogalmunk lett volna, egy dán orvos-kutató, Hans Christian Gram egy ma róla elnevezett festési eljárást dolgozott ki, amely alapján a baktériumok két csoportba oszthatók. Egyes baktériumok jól festődtek, ezeket **Gram-pozitívnak (G+)** míg mások nem festődnek, ezeket **Gram-negatívnak (G-)** nevezzük. Bár akkor az eltérő festődés oka ismeretlen volt, a festődés hátterében a baktérium sejtfa szerkezet alapvető különbsége áll. Ezeket a különbségeket biokémiai és elektronmikroszkópos vizsgálatok alapján ma már jól ismerjük. A két sejtfa típus fizikai megjelenése lényegesen eltérő.

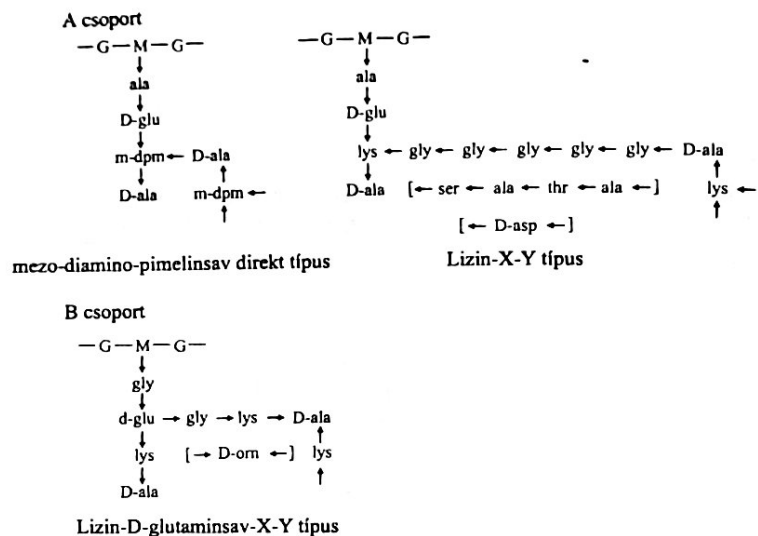


4.5. ábra: Az *E. coli* sejtfa térszerkezetének sémás ábrázolása
G = N-acetil glükózamin, M = N-acetil muraminsav.

A függőleges vonalak a muraminsavhoz kapcsolódó szabad tetrapeptideket, a vízszintes vonalak pedig a keresztkötiésben közvetlenül részt vevő tetrapeptid oldalláncokat ábrázolnak.

4.3.1. Az eubaktériumok sejtfala: a Gram-pozitív (G+) és Gram-negatív (G-) sejtfal

A G+ baktériumokat kívülről egy vastag (10–80 nm), több réteg peptidoglikánból álló sejtfal határolja, mely alatt közvetlenül a sejtmembrán található. A G+ baktériumokban mindhárom fajta murein (4.6. ábra) előfordul. A vastag peptidoglikánhoz savas poliszaharidok, elsősorban **teichoinsav** (4.7. ábra) és lipoteichoinsav kapcsolódnak. A teichoinsav egyrészt a sejtfal szerkezetét tartja egyben sejtosztódás és -növekedés során, másrészt a sejtfelület negatív töltését biztosítja. A teichoinsavak antigénként viselkednek.

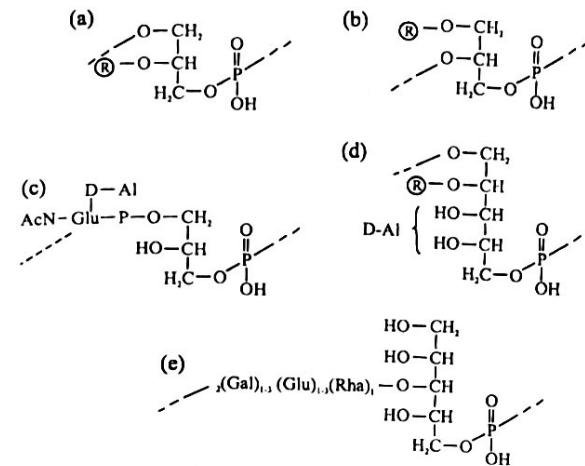


4.6. ábra: A murein molekuláris szerveződése

A csoport: a tetrapeptid harmadik aminosava vagy közvetlenül (mezo-diamino-pimelinsav direkt típus), vagy egy változó hosszúságú és összetételű peptidhídon keresztül (Lizin-X-Y típus) kapcsolódik a másik tetrapeptid terminális D-alaninjához. B csoport: a keresztkötés a tetrapeptid második aminosava (D-glutaminsav), és a terminális D-alanin között jön létre. Ebben az esetben a keresztkötés csak peptidhídon keresztül lehetséges, melynek utolsó tagja egy diamino aminosav.

A sejtfal és sejtmembrán egymáshoz szorosan illeszkedik, közöttük rés alig van.

A G- baktériumok sejtfala sokkal komplexebb morfológiájú. Legkívül egy úgynevezett **külső membránt** (OM = outer membrane), ez alatt egy vékony **peptidoglikán**-réteget tartalmaz, majd pedig a **sejtmembrán** következik. A vékony peptidoglikán-réteg mindkét oldalán, a sejtmembrán és a külső membrán által ha-



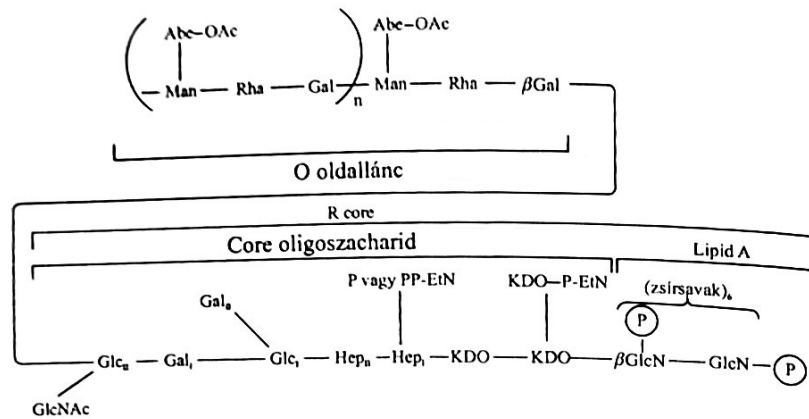
4.7. ábra: Különböző teichoinsavak ismétlődő egységei

a.) Glycerin teichoinsav *Lactobacillus*-ban. R = D-alanin; b.) Glycerin teichoinsav *Actinomycetaceae*-ben. R = D-alanin; c.) Glycerin teichoinsav *Staphylococcus*-ban. A D-alanin az N-acetil glükózamin 6. C-atomjához kapcsolódik; d.) Ribitol teichoinsav *Bacillus* fajokban. A D-alanin a ribitol 3. vagy 4. C-atomjához kapcsolódik R = glükóz; e.) Ribitol teichoinsav *Pneumococcusok* tokjában.

tároltán egy kiterjedt rés található, melyet **periplazmatikus térnek** nevezünk. A külső membrán részben hasonlít a sejtmembránra, de attól eltérő lipideket, poliszaharidokat és fehérjéket is tartalmaz. Az OM külső rétege tartalmazza az ún. **lipopoliszaharidokat** (LPS), melyek lényegesen eltérőek a különböző G- baktériumokban, s molekulatömegük 10 000 dalton feletti (4.8. és 4.9. ábra). Három lényeges molekularészt tartalmaznak: a **lipid A**, az **R core** (valaminek a magja, veleje) régió és az **O oldallánc**. A lipid A hat-hét telített zsírsavláncot tartalmaz egy foszforilált glükózamin-dimerhez kapcsolódva, s ez horgonyozza a LPS-molekulát a külső membránhoz. Ehhez kapcsolódik az R core régió, ami egy rövid cukorlánc, melyben két szokatlan szerkezetű cukor, a 2-keto-3-dezoxi oktonsav és heptóz található, s ehhez kapcsolódik a hidrofíli O oldallánc, ami egy hosszú, ismétlődő tetra- és pentaszaharidokból álló cukorlánc. Ez felelős G- baktériumokban az ún. **O antigén**ért. Az elnevezés a német ohne (valami nélküli) szóból származik, s ami ezen baktériumok flagellumnélküliségére utal.

A peptidoglikán-réteg tartalmaz egy kis specifikus lipoproteint, melyet murein lipoproteinnek nevezünk, s amely a külső membránhoz horgonyozódik le.

A G- baktériumok zömében az A csoportbeli m-Dpm-en keresztül közvetlenül kapcsolódó mureint tartalmaznak.



4.8. ábra: *Salmonella typhimurium* lipopoliszaharidja

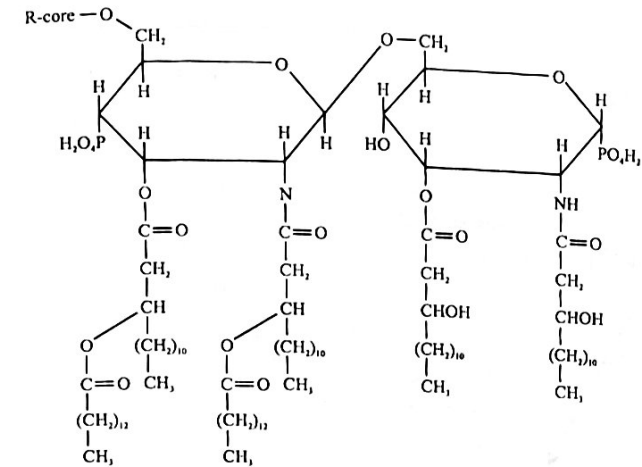
Abe = abekvóz, Ac = acetyl, Man = mannóz, Rha = ramnóz, Gal = galaktóz,
 GlcNAc = N-acetyl glükózamin, Glc = glükóz, Hep = heptóz, KDO = keto-dezoxi-oktansav
 EtN = etanol amin

A külső membrán funkciója többszörös: kívülről behatárolja a periplazmát, negatív felszint biztosít és permeabilitási gátat is jelent bizonyos anyagok (antibiotikumok, lizozim és más bontó enzimek) számára. Ugyanakkor a külső membrán nem akadályozza a tápanyagok felvételét. Ezek a porin fehérjék által létrehozott csatornákon keresztül szabadon átjutnak a külső membránon.

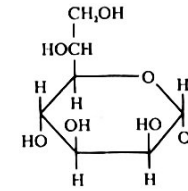
A periplazma egy olyan tér, melyben egyrészt a táplálékmolekulák emésztéséért felelős enzimek, másrészt pedig a transzportfolyamatok kötőfehérjéi találhatók.

A sejtfal bontására képes enzimek széles körben elterjedtek. Maguk a baktériumok is termelnek ilyeneket (endopeptidázok, glükozidázok, muramidázok stb.), de találunk ilyet a magasabbrendűekben is. Ilyen pl. a lizozim is, mellyel a G+ sejtek sejtfala leemészthető, s ozmotikusan stabilizált (izoozmotikus) közegben a sejtekből protoplasztot (sejtfalától megfosztott, egyébként intakt sejt) hozhatunk létre. Ezek alkalmas körülmények biztosítása esetén sejtfalukat regenerálni képesek. Jelentőségük a G+ baktériumokkal végzett modern genetikai kísérletekben – protoplaszt fúzió, transzformálás, transzfecció – van.

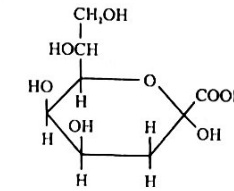
A sejtfal épsége a baktériumsejtek számára létfontosságú. Éppen ezért a sejtfal bioszintézis bármely lépését gátló szer baktériumellenes szerként használható. Ezen alapul egy nagyon fontos antibiotikum-család, a β-laktámok (penicillinek és cefalosporinok) hatása. Hatásuk lényege, hogy gátolják a peptidok közötti kötések kialakulását, az ún. transzpeptidációt, mivel gátolják a transzpeptidáz enzim működé-



lipid A



heptóz



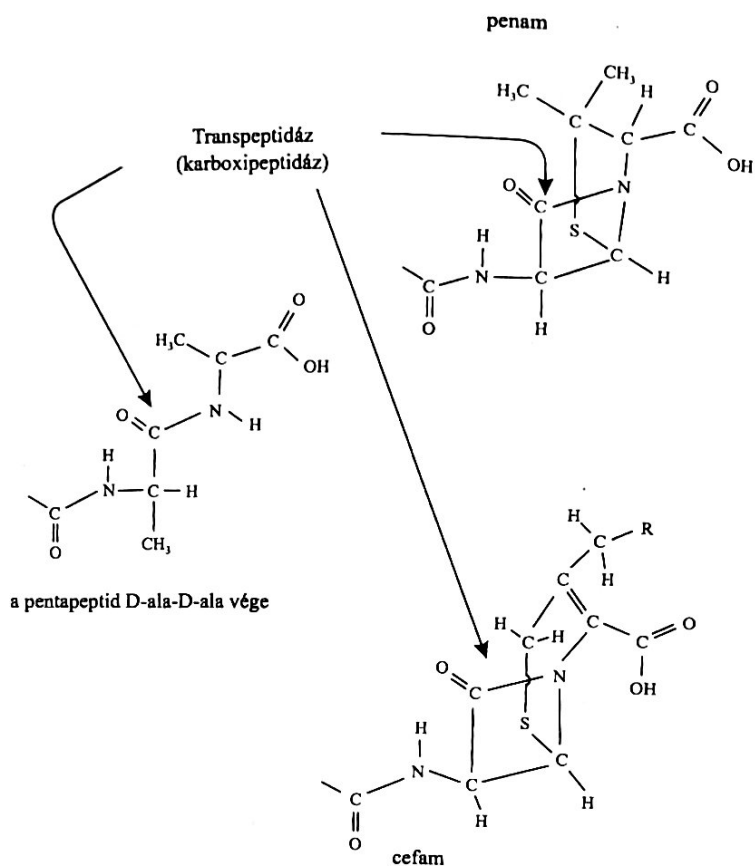
2-keto-3-dezoxi oktansav (KDO)

4.9. ábra: A lipopoliszaharid komponenseinek szerkezete

sét, lévén szerkezetük nagyon hasonló a pentapeptid végén lévő D-Ala-D-Ala dipeptidhez (4.10. ábra). Ezáltal nem jön létre egy erős, az ozmotikus nyomásnak ellenálló sejtfal. A hatásmechanizmus alapján érthető, hogy csak osztódó sejtekre hatnak.

4.3.2. A Gram-festés

Az eljárás során egymást követően kristályibolya, és kálium jódidos jóddal történő festés, alkoholos mosás, majd szafraninnal történő festés követi egymást. A festékek és a G+ ill. G- sejtek között semmiféle specifikus kölcsönhatás nincs, a festés eredménye a sejtfal szerkezetében lévő különbségek miatt alakul ki. A kristályibolya minden egyes sejtet egyformán fest. A KI-I oldat használata kulcsfontosságú, mivel a kristályibolyával nagy kristályokat képez, amelyek a peptidoglükán térhálóban megrekednek. Mivel a peptidoglükán térrács a G+ sejtekben sokkal vas-



4.10. ábra: β -laktám antibiotikumok és a sejtfal bioszintézis során kialakuló pentapeptid D-ala-D-ala végének szerkezete

tagabb, ezért ezek festődése sokkal intenzívebb. Az alkoholos mosás pedig a külső membrán lipidjeinek kioldása után a vékony peptidoglikán rétegből könnyebben kioldja a festéket. Mivel ezután a lépés után a G⁻ sejtek szintelenek, a könnyebb észlelés miatt egy, a kristályviola-KI-I komplextől eltérő színű festékkel, a szafra-ninnal festjük meg őket, s így a festés után a G⁺ sejtek bíborvörösek, a G⁻ sejtek pirospirosak lesznek.

4.3.3. Az *Archaeobacterium*ok sejtfala

Az ősbaktériumok sejtfala eltér az eubaktériumokétól. Egyes fajok sejtfalában döntően poliszacharidok, másokéban pedig fehérjék, illetve glikoproteinek találhatóak.

Az ősbaktériumok sejtfalában található murein két összetevőjében is eltér az eubaktériumok mureinjétől: N-acetil muraminsav helyett N-acetil talozaminuronsavat tartalmaz, és soha nem tartalmaz az eubaktériumokban előforduló „szokatlan” (fehérjében elő nem forduló) aminosavakat. Ezt a mureint **pseudomurein**-nek nevezzük.

A sejtfal nem érintkezik közvetlenül a mikroorganizmus környezetével. Kívülről fehérjék és/vagy glikoproteidok lazább vagy kompaktabb, mozaikszerűen elhelyezkedő, kristályos rétege borítja, amit **S-rétegnek** (surface = felület) neveznek. Ez az S-réteg lehet maga a sejtfal is. Ilyen S-réteg számos eubaktérium esetén is megtalálható.

4.4. A sejtmembrán szerkezete és funkciói

4.4.1. Az eubaktériumok membránja

A sejtfal alatt helyezkedik el a 7–8 nm vastagságú citoplazma vagy sejtmembrán, amely egy olyan flexibilis réteg, mely teljesen körbezárja a sejteket. Szerkezetét tekintve megegyezik az eukarióta sejtek membránjával (unit vagy egység membrán). Kettős lipoproteid-réteg, melyben a foszfolipidek a membrán 30–40%-át, a fehérjék 60–70%-át teszik ki. Lényeges különbség viszont, hogy a *Mycoplasma*-fajok kivételével a bakteriális membrán szterolt nem tartalmaz. Helyette az azonos funkciókat ellátó hopanoidok találhatóak meg. A membrán a sejtfelszín bizonyos részein pénzterkeresszerűen betüremkedik a citoplazmába. Ezt a szerkezetet **mezoszómának** hívjuk. Különösen jellemző ez a G⁺ baktériumokra. A mezoszómák lényegében megnagyobbítják a különböző funkciók ellátásában részt vevő membrán felületet. A mezoszómák feltételezett funkciója a sejtfal bioszintézisében való részvétel, illetve a kromoszómák utódsejtekbe való juttatása sejtosztódás alkalmával.

Mivel a baktériumokban nincsenek különböző funkciók ellátására differenciálódott membránból felépülő sejtoranellumok, ezért a sejtmembrán, a membrán specifikitását biztosító fehérjék által számos funkciót lát el. Így például, bár a glikokalix és a sejtfal bizonyos makromolekulák szabad mozgását akadályozzák, alapvetően a sejtmembrán végzi a transzportfolyamatok szabályozását, azaz tápanyagok felvételét, s salakanyagok és különböző metabolikus termékek környezetbe való leadását. Ezt általában specifikus **transzportfehérjék** végzik. Igen sok bioszintetikus út ugyancsak membránhoz kötött. Így azon makromolekulák szintézise, melyek a sejtfelszíni szerkezetekbe épülnek be, vagy az energiaszolgáltató rendszerek enzimeji.

Bár mint fentebb láttuk, a citoplazmába betüremkedő membrán és a sejtfelszín között általában fizikai kontinuitás létezik, egyes *Cyanobaktériumok* esetén a fotoszintetizáló rendszer enzimeji tilakoidszerű lapos membránzsákok membránjában helyezkednek el.

4.4.2. Az ősbaktériumok membránja

Az ősbaktériumok, melyek általában extrém körülmények között élnek, membránjukban az eubaktériumokban található glicerinnél és el nem ágazó zsírsavból álló észterek helyett sokkal stabilabb glicerinnétereket tartalmaznak, melyekben a hidrofób részt elágazó lánccal szénhidrogénláncok alkotják. Ezek a fitán, bifitán, és más izoprénszármazékok. Szierolt és hopanoidot nem tartalmaznak.

4.5. A citoplazma és a maganyag szerkezete és funkciói

4.5.1. A citoplazma szerkezete

A baktériumsejtek membránján belül egy nagy viszkozitású folyadék, a protoplazma található, amely a sejtek bioszintetikus aktivitásainak színtere. Fő komponense a víz, melyben a különböző tápanyagok (cukrok, aminosavak, nukleotidok, ionok) oldatban találhatók. Ezek szolgálnak a különböző bioszintézisekben az ugyancsak a protoplazmában lévő enzimek szubsztrátjaként, melyek részben a sejtek felépítéséhez szükséges kis- és makromolekulákat szintetizálják, részben a sejt számára szükséges energiát szolgáltatják. Ugyancsak itt találjuk a különböző, baktériumokban is megtalálható sejtorganellumokat, mint a maganyag (**nukleoid**), **riboszómák**, **mezoszóma** és speciális bakteriális szerkezetek, mint **vakuumok**, **granulumok** stb.

4.5.2. A baktériumok genetikai anyagának szerkezete

A baktériumoknak, mint minden sejtnek élőlénynek a genetikai anyaga duplaszálú DNS. A DNS-molekula általában cirkuláris szerkezetű, bár ma már ismerünk lineráris DNS-genomot tartalmazó baktériumfajokat is (*Streptomycesek*). Ezekben a DNS-molekula két végéhez fehérjék kapcsolódnak, s ezek asszociációja eredményeként a DNS-molekula, bár fizikailag nem cirkuláris, géntérképezéskor cirkulárisként viselkedik. A DNS-hez itt is kapcsolódnak nem hiszton, de „hisztonszerű” bázikus fehérjék. A baktérium-kromoszóma mellett további önálló replikációra képes genetikai elemek a **plazmidok**, melyek kicsiny cirkuláris DNS-molekulák. Ezek a baktériumsejteknek védelmi képességet biztosítanak (antibiotikum-rezisztencia, su-

gázás elleni rezisztencia, toxinok, enzimek termelése stb.). Tartalmazhatnak még fág DNS-t is, amely ha a genomba beépül, **profágként** hosszú ideig része a baktérium-kromoszómának, „rejtve” marad, s azzal együtt replikálódik. Az eubaktériumok genomjának szerveződésére jellemző, hogy a gének **intronokat nem tartalmaznak**, a **messenger RNS policisztronális**, s mivel a nukleoidot nem választja el magmembrán a citoplazmától, ezért a transzkripció és transláció térben és időben nem különül el.

Ezzel szemben az *Ősbaktériumok* génjeiben az eukariótákhoz hasonlóan intronokat fedeztek fel.

4.5.3. A riboszómák

A baktériumok citoplazmájában több ezer riboszóma található, melyek a fehérjeszintézisben vesznek részt. Elvileg nem, csupán a felépítő molekulák (rRNS és fehérjék) számát és méretét, az alegységek méretét tekintve térnek el az eukarióta sejtek riboszómáitól. Különböznek továbbá az antibiotikumokkal szembeni érzékenységükben is, ami a fehérje szintézisre ható antibakteriális antibiotikumok hatásának alapja. Az alegységek mérete 50S és 30S, melyek egy 70S üledékesi állandójú partikulumot adnak. A rRNS méretei 16S, 23S és 5S. A 16S rRNS-szekvenciák hasonlósága ma a legpontosabb filogenetikai bélyeg.

4.6. Speciális prokarióta organellumok szerkezete és funkciói

Mint már korábban említettük, a baktériumok, a *Cyanobaktériumok* kivételével, nem rendelkeznek különböző funkcióra specializálódott, szabályos egységmembránnal határolt sejtorganellumokkal. Igen sok faj rendelkezik viszont olyan organellumokkal, melyeket nem szabályos egységmembrán, hanem főleg fehérjéből álló, egyrétegű, membránszerű képlet határol.

Ilyen képletek például a **gáz vakuumok**, melyek a vízben élő baktériumokban találhatók. Ezek funkciója a sejtek denzitásának szabályozása, s a sejteknek olyan rétegben való tartása, ahol a környezeti paraméterek (fényviszonyok, oldott oxigénkoncentráció, tápanyagok) optimális a baktérium-populáció számára.

A fotoszintetizáló zöld baktériumokban a fényenergia hasznosítását végző fotoszintetikus apparátus található egy, a sejtmembrán alatt közvetlenül elhelyezkedő vezikulumban, amit **kloroszómának** vagy **chloróhium vesikulumnak** nevezünk.

Sok fotoszintetizáló baktériumban (*Cyanobaktérium*, biborbaktérium) megtalálható az ún. **karboxiszóma**, melyben a szén-dioxid-fixálás kulcsenzime, a ribulóz

biszfoszfát szintetáz akkumulálódik a sejtekben, s ennek megfelelően ez a szén-dioxid-megkötés helye ezekben az autotrof baktériumokban.

Bizonyos vízi környezetben élő baktériumokban található egy organellum, a **magnetoszóma**, amely magnetit (Fe_3O_4)-kristályokat tartalmaz, s a baktériumok mágneses térben való orientálódását, s ezzel az optimális vízrétegben való elhelyezkedést segíti.

4.7. Tápanyagok felhalmozása a citoplazmában

A baktériumpopulációk számára rendelkezésre álló tápanyagok időben igen drasztikusan változnak. Ennek kompenzálására, amikor a tápanyagellátás bőséges, a sejteken belül **zárványok** vagy **granulumok** formájában tápanyagot halmoznak fel, ezeket mobilizálják későbbi alkalmakkor, mikor a tápanyag elfogy a környezetükből. Szén- és energiaforrás tartalékként a **nitrogént nem tartalmazó granulumok** (glükánok és poli-hidroxi-vajsav) fordulnak elő. A glükózból felépülő glükánok tartaléktápanyagként az eukariótákban is előfordulnak, a poli-hidroxi-vajsav (PHB) azonban csak baktériumokban található. A glükóz és hidroxi-vajsav monomerek polimerré való átalakítása egyrészt ozmotikusan inert formába akkumulálja ezeket az anyagokat, másrészt a PHB esetén neutralizálja is az egyébként savas metabolitot. A PHB újabbán mint biológiai úton lebontható műanyag alapanyag került előtérbe.

A baktériumok általában nem tartalmaznak **nitrogén tartalmú tartalék tápanyagokat**. Kivételt képeznek ez alól a *Cyanobaktériumok*, melyekben cianoficin granulumok találhatóak. Ezek argininnek és aszparaginsavnak a ko-polimerjei. Szintézisük, sok más különleges szerkezetű és funkciójú polipeptidhez (peptid antibiotikumok) hasonlóan nem riboszómák felületén történik, mivel szintézisük kloramfenikollal (bakteriális fehérjeszintézist gátló antibiotikum) nem gátolható.

Egyes baktériumok esetén találkozhatunk **polifoszfát granulumokkal**, melyeket metakromatikus rögöknek is neveznek, mivel egy kék festékkel, metilén késsel való festés után vörös vagy bíbor színben tűnnek fel. A polifoszfát granulumok ATP-foszfátjának szeretlen pirofoszfátba való épülésével jönnek létre, s feltehetőleg lebomlásukkor ATP keletkezik.

Az autotrof baktériumfajoknál, amelyek kénhidrogént hasznosítanak elektron-donorként (bíbor kénbaktériumok), vagy oxidálnak mint energiaforrást (*Beggiatoa*) találkozunk **kéntartalmú granulumokkal**. A felhalmozott kén nagyméretű, amorf zárványok formájában jelenik meg.

4.8. A baktériumok spóráképzése

Bizonyos baktériumok egy, a környezeti hatásoknak ellenálló, nyugvó, aszexuális kitartó sejtet, spórákat hoznak létre. A spóráképző baktériumok egy részében (a G+ *Bacillus*, *Clostridium*, *Sporolactobacillus* nemzetségek, és a G- *Desulfotomaculum* és *Oscillaspira* nemzetségek) ennek a sejtnek a létrehozása az anyasejten belül történik, ezt **endospóráknak** nevezzük. A baktériumok egy másik részében (*Actinomyeták*) ez bizonyos sejtek átalakulásával (differenciálódás) de nem egy sejtben belül jön létre, ezeket **exospóráknak** hívjuk.

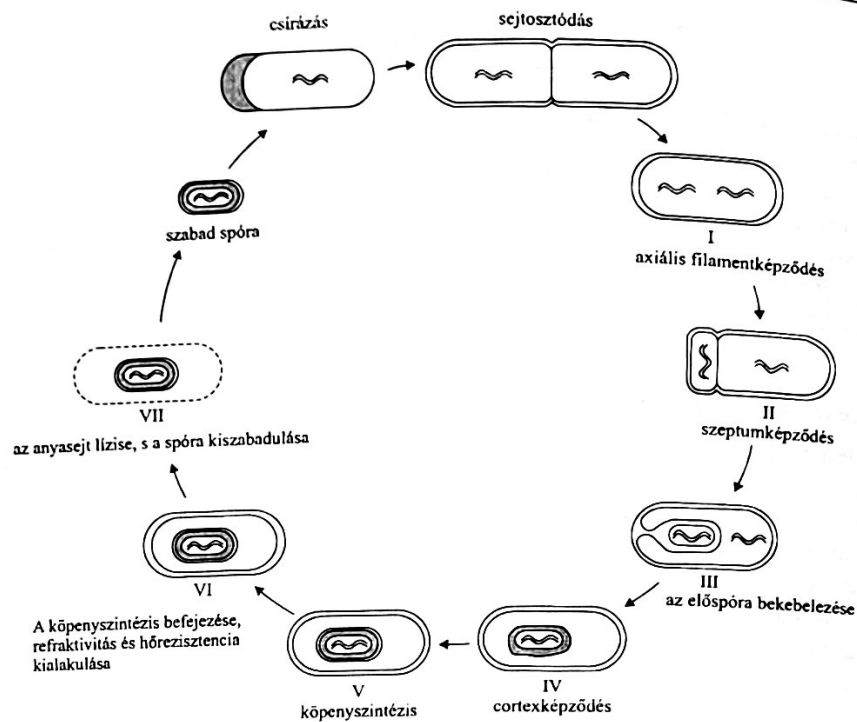
4.8.1. Endospóráképzés

Általában akkor következik be, amikor valamely, az aktív növekedéshez szükséges tápanyag elfogy. Első lépésben a DNS egy axiális filamentumot képez, amit a sejtmembrán betüremkedése követ, s ezzel az ún. **előspóra** jön létre. A membrán betüremkedése folytatódik, s az előspórákat az anyasejt mintegy endocitózisszerűen egy másik membránnal is körbevéve bekebelezi. Ezt követően a két membrán közé az ún. **kortex** rakódik le, s ebben a stádiumban történik a kalcium és dipikolinsav akkumulálódása. Ezután a kortexen kívül **fehérjeköpeny** jön létre, s a spóra érését követően az anyasejtet litikus enzimek lebontják (4.11. ábra). Az endospóra rendkívül ellenálló hővel, kiszáradással, sugárzással, s különböző kémiai ágensekkel szemben egyaránt. Ellenállóképességét valószínűleg a cortexben lerakódó **kalcium dipikolinátnak**, illetve a spóra dehidratált állapotának köszönheti. A spórák életképességüket évszázadokig, sőt több ezer évig is megőrzik (7500 éves *Thermoactinomyces*, az egyetlen endospóráképző *Actinomyetá* spóráit is sikerült felnövesztetni), s kedvező környezetbe kerülve aktiválódnak, kicsíráznak, s újra vegetatív növekedésbe fognak.

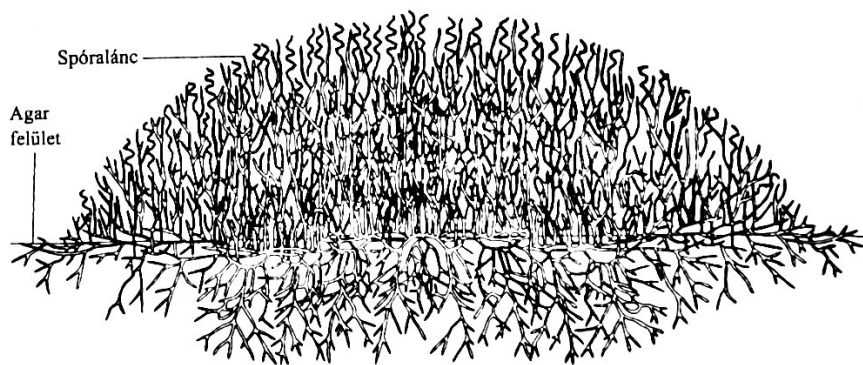
4.8.2. Exospóráképzés

A *Methanotroph* baktériumok exospóráképzése során az anyasejt bimbózásával létrejövő új sejt, vagy egy vegetatív sejt átalakulásával jön létre a spóra. Kívülről ezekre a sejtekre is további rétegek rakódnak, amely ellenálló képességüket fokozza. Ezeknél poli-hidroxi-vajsav akkumulálódás történik.

Ettől eltérő az *Actinomyeták* spóráképzése. Ezek szilárd táptalajon nőve hosszú elágazó fonalakat, **micéliumot** hoznak létre, mely a táptalajba is belenő. Ezt **szubsztrát micéliumnak** nevezik. **Szeptum** (keresztfal) csak ritkán képződik, s a sejtek ennek megfelelően hosszú, csőszerűek, sok magekvivalenst tartalmaznak. Legtöbb faj a szubsztrát micéliumra merőlegesen, a levegőbe is növeszt micéliumot,



4.11. ábra: Gram-pozitív endospóráképző baktériumok életciklusa és endospóráképzése



4.12. ábra: Actinomyceták telepmorfológiája keresztmetszetben

amit **légmicéliumnak** neveznek. Általában ezeknek a légmicélium-fonalaknak a végén, intenzív szeptumképzés és a sejtfa megvastagodása után jönnek létre az aszexuális, ellenálló kitarító sejtek, a spórák (4.12. ábra). Egyes fajokban a spórák spóratartóban képződnek. Bizonyos fajok esetében spóráképzés a szubsztrát-micéliumon is megfigyelhető.

4.9. A legfontosabb baktériumok rövid leírása

A Bergey's Manual of Systematic Bacteriology legújabb kiadása, főleg fenotípusos jegyek (a sejtfa megléte vagy hiánya, illetve a sejtfa szerkezete és kémiai összetétele) alapján négy divízióba és további fenotípusos jegyek (alak, metabolizmus, mozgékonyosság, endospóráképzés stb.) alapján hét osztályba sorolja a baktériumokat. Az osztályok alatt természetesen a növény- és állatrendszertanból ismert további tagozódás (rend, család, nemzetség, faj) is létezik. A rendek és családok részletezésétől részben terjedelmi okból, részben pedig azért, mert ezek még ma is változó, a filogenetikai összefüggéseket sokszor nem követő kategóriák, eltekintünk. Viszonylag jól jellemzett és stabilnak tekinthető kategóriák viszont a nemzetségek és fajok, így ezeket is felhasználva tárgyaljuk az alábbiakban a gyakorlati vagy tudományos szempontból érdekes baktériumcsoportok legfontosabb tulajdonságait és képviselőit.

4.9.1. I. divízió: *Gracilicutes* (Gram-negatív baktériumok)

Morfológiájukban rendkívül változatos, komplex G⁻ sejtfallal rendelkező baktériumok tartoznak ebbe a divízióba. Energianyerés szempontjából is rendkívül változatosak. Kemo- és fotoautotrof, kemoorganotrof, és obligát sejtparaziták is tartoznak ide.

4.9.1.1. I. osztály: *Scotobacteria* (Gram-negatív, nem fotoszintetizáló baktériumok)

Még ez az osztály is egy nagyon nagy gyűjtő kategória. Az összes nem fotoszintetizáló, G⁻ baktériumot magába foglalja. Ennek megfelelően energianyerésük változatos. Sok kórokozó és sok, az anyagok természetes körforgalmában fontos szereppel bíró nemzetség tartozik ide.

Spirális Gram-negatív baktériumok

A *Spirochaeta*, *Treponema*, *Borrelia* és *Leptospira* nemzetségek tartoznak ebbe a csoportba. Sejtjeik igen hosszúak (2–250 μm), dugóhúzó szerűek. A periplazmatikus

térben elhelyezkedő **endoflagellumaikkal** mozognak, melyeknek száma változó (2-100). Kemoorganotrofok. Aerob, fakultatív anaerob és anaerob életmódot folytatók egyaránt vannak közöttük. Ökológiai igényüket tekintve is széles skálán mozognak, hiszen szabadon élő és patogén fajok egyaránt tartoznak közéjük.

A *Spirochaeta* nemzetségbe anaerob vagy fakultatív anaerob fajok tartoznak, az utóbbiaknál gyakori a karotenoid termelés. Szabadon élők, gyakoriak kénhidrogén tartalmú vizekben. Növekedésükhöz komplex táptalajt igényelnek.

A *Treponema* nemzetségbe tartozó fajok szintén anaerobok, vagy fakultatív anaerobok. Az ember és az állatok szájüregében, emésztőrendszerében és a genitális traktusokban élnek, számos fajuk patogén. A *T. pallidum* a **vérhaj** (luesz, szifilisz) kórokozója. Szexuális úton terjed. Valamikor félelmetes népbetegség volt. A primer fertőzés után a bőrsérüléseken keresztül behatoló mikróba a nyirokcsomókba vándorolva elszaporodik, s 6-8 hét múlva létrehozza a jellegzetes bőrkiütéseket. Ezután sok évi nyugalmi periódus következik. A betegség legsúlyosabb, harmadik stádiuma súlyos idegrendszeri és szívkoszorúér-elváltozással jár. A kemoterápia első sikeres eredményei éppen ezzel a kórokozóval kapcsolatosak (Paul Ehrlich, salvarsan). A betegség korai stádiumában ma már penicillinnel jól gyógyítható. Sajnos napjainkban ismét egyre gyakoribb.

A *Borrelia* genusz fajai anaerobok, vagy mikroaerofilek. Emlős állatokon, rovarokon élnek. Régebben a *B. recurrentis* okozta visszatérő láz, újabban pedig elsősorban a *B. burgdorferi* okozta **Lyme-kór** miatt tartjuk őket számon. Az előbbi esetben ruhatetvek, az utóbbiban pedig kullancsok terjesztik őket. Penicillin és doxiciklin hatásosan használható ellenük. Immunizálási lehetőség nincs.

A *Leptospira* nemzetség fajai obligát aerobok. Sok fajuk állatokban él, tüneteket, betegséget állatban nem okoz. Harapással stb. való fertőződés után viszont emberben súlyos betegséget, **leptospirozist** okoz.

Aerob vagy mikroaerofil, mozgékony, helikális vagy vibroid G-negatív baktériumok

Többségükben kemoorganotrofok, de kemolitotrof fajok is van. Poláris flagellumokkal mozognak.

A *Spirillum*, *Aquaspirillum*, *Oceanospirillum* és *Azospirillum* nemzetségek fajai különböző természetes élőhelyeken (édesvizekben, tengerekben, talajban) élnek.

Az *Azospirillum* fajok enyhén görbültek, egyetlen poláris flagellumuk van. Pázsitfűfélék, gumós növények gyökereiben társulva gyakoriak. Alacsony oxigéntenzió mellett **nitrogént fixálnak**, ami egy egyedi, különleges tulajdonság, mivel a nitrogénkötő enzim, a **nitrogenáz** rendkívül érzékeny oxigénre. Az ellentmondás magyarázata valószínűleg az, hogy az *Azospirillum* fajok légzési aktivitása igen nagy, s az

oxigén valószínűleg nem jut el a sejt belsejében a nitrogenázhoz. Oxigénhiány esetén viszont nitrátot használnak elektron akceptorként, s a nitrát-disszimiláció eredményeként nitrit vagy nitrogéngáz keletkezik.

A *Campylobacter* nemzetségbe rövid, poláris flagellumokkal mozgó pálcák tartoznak. Élőhelyük az ember és állatok szájürege, bélcsatornája. Mikroaerofilek. Több patogén fajuk ismert. A *C. jejuni* az **enteritis** kórokozója. Szájon át, tejjel vagy állatok húásával jut a szervezetbe. A *C. fetus* a szarvasmarha és a juh vetélését okozza.

Hajlott pálcika alakúak a humánpatogén *Helicobacter pylori* sejtjei. Az ember gyomorfalának mukózus rétege alatt élnek, s gasztroenteritist, majd **gyomorfekélyt** okoznak. Emberről emberre terjednek, s becslések szerint a humán populáció mintegy 40%-a fertőzött.

Érdekes, komplex életciklusuk van a *Bdellovibrio* fajoknak. Ezek a monotrich poláris flagellummal mozgó sejtek más baktériumokon, ragadozó módjára élnek. A megtámadott baktérium sejtfalát intenzív rotációs mozgásával, litikus enzimek kibocsátása közben mintegy átfúrja. A periplazmatikus térben növekszik, a lizáló gazdasejtől kiszabaduló anyagok közvetlen felhasználásával, miközben flagellumát is elveszíti. Igen gyorsan hosszú filamenttá nő, mely osztódással kicsiny flagellált utódokat hoz létre, melyek kiszabadulnak. Ez az életciklus hasonlít a bakteriofágok életciklusára. Nem véletlen, hogy a *Bdellovibrio* fajok bakteriális pázsiton a fágokhoz hasonlóan **plakkokat** hoznak létre.

Aerob Gram-negatív pálcák és kokkusok

Igen nagy, összesen 37 nemzetséget magába foglaló csoport, melyek közül csak a legjelentősebbeket tárgyaljuk. Növény, állat és humánpatogén fajok egyaránt megtalálhatók közöttük. Egyes fajaik nitrogén megkötésére is képesek.

A *Pseudomonas* nemzetségbe poláris flagellumokkal mozgó, egyenes vagy enyhén görbült pálcika alakú baktériumok tartoznak. Szigorúan aerobok, oxidáz és kataláz pozitívok. Többségük kemoorganotrof, de egyes fajaik fakultatív kemolitotrofok, hidrogént vagy szén-monoxidot használva energiaforrásként. Igen sok faj (kb. 90) tartozik ide, melyeket bizonyos fenotípusos jegyek (poli-hidroxi-vajsav termelés, fluoreszkáló pigmenttermelés, pathogenitás, glükózhasznosítás stb.) alapján további csoportokba osztanak. Számos fajuk igen sokféle szerves anyag lebontására képes, s jelentősek a mineralizációban. Igen sok patogén fajuk ismert. A *P. aeruginosa* állat- és humánpatogén, sebek gennyesedését, s húgyúti fertőzéseket okoz. A *P. syringae*, *P. solanacearum*, *P. cepacia* fajai jelentős növényi kórokozók. A *P. fluorescens* a hűtött élelmiszerek (tej, hús, tojás stb.) megromlásáért felelős, mivel 4 °C-on is növekszik, de vannak növénypatogén törzsei is.

A *Xanthomonas* nemzetség fajai poláris csillóval mozgó, élénksárga telepet képző, tojásdad pálcák. Szaprofita mikroorganizmusok, sok közöttük a növényi

kórokozó. Sejtfalukon kívül vastag xantánból álló tokot képeznek. Xantán ipari termeltetésére használják.

Az *Azotobacter* genuszba nagyméretű, csillókkal mozgó, tokképző fajok tartoznak. Szaprofita kemoorganotrofok. Nitrogén fixálására képesek, de ezt szabadon, és nem szimbiózisban teszik. A talaj felső rétegének nitrogénellátásában jelentős szerepük van.

Ugyancsak szabad nitrogénkötők a csillós *Azomonas* nemzetség tagjai.

Igen jelentősek a *Rhizobium* nemzetség fajai. Pálca alakú, csillós, pleiomorf sejtei gyakran tartalmaznak poli-hidroxi-vajsav zárványokat. Az ide tartozó fajok gazdasági jelentőségét **nitrogénkötő képességüknek** köszönhetik. Pillangós virágú növények gyökérszövetén behatolva, a gyökereken **gümőt** hoznak létre, s ebben elszaporodva, **bakteroid formát** felvéve végzik a nitrogén megkötését. Szabadon nem, csak szimbiózisban képesek nitrogénfixálásra. A gümő kialakulásáért bakteriális gének indukálta növényi gének felelősek. A nitrogénfixálás gazdasági haszna felbecsülhetetlen. Éppen ezért molekuláris mechanizmusának tanulmányozása napjaink egyik fontos kutatási területe. Az ide tartozó fajok (*R. meliloti*, *R. leguminosarum*, *R. loti*) neve az egyes fajok gazdanövény-specifitására utal.

Igen közeli rokonai a *Rhizobium* fajoknak a *Bradyrhizobium* fajok. A *B. japonicum* szójával társult nitrogénkötő. Mivel a hazai természetes baktériumflórából hiányzik, mesterségesen inokulált magvakat kell vetni a nitrogénkötő szimbiózis biztosításához.

Az *Agrobacterium* genusz fajai pálca alakú, peritrich, kemoorganotrofok. Gümőképzésre és nitrogén megkötésére nem képesek. Viszont egyes fajaik (*A. tumefaciens*) igen sok növényt képesek megtámadni, s tumoros sejtburjánzást indukálni. A tumorképződésért a baktérium **Ti nevű plazmidján** kódolt gének felelősek. Az *A. radiobacter* használható ellene biológiai védelemre, mivel antibiotikumot (agrocín) termel.

A *Methylococcus* nemzetség közös sajátága, hogy szén- és energiaforrásként metánt vagy metanolt hasznosítanak, azaz metilotrofok. Mivel a hidrogénből és szén-dioxidból történő metánképzés anaerob viszonyok mellett, talajban és vizekben egyaránt gyakori, a metilotrof baktériumok élőhelye ezek környezetében van. A metánt metanollá, majd formaldehidé alakítják, ami szerin, vagy cukrok szintézisére használódik. Sejtheik pálcika, vibrio vagy kokusz alakúak, aerob-, kataláz- és oxidáz-pozitívak.

Az *Acetobacter* genusz fajai pálcika vagy ellipszoid alakúak. Az etanolt ecetsavvá, az ecetsavat és tejsavat pedig szén-dioxiddá és vízzé oxidálják. Alkoholos erjedés kísérőjeként gyakoriak. Egyes fajikat ecetsavgyártásban ma is használják. Érdekeségük, hogy tokanyaguk cellulóz, ami prokariótákban igen ritkán fordul elő.

Az *Acetobacter* közeli rokona és ahhoz hasonló morfológiájú a *Gluconobacter* nemzetség egyetlen fajjal, a *G. oxydans*-szal. Mivel a trikarbonsav ciklus enzimjei hiányoznak, a cukorbontást nem képes végigvinni. Ecetsavgyártásban használatosak.

A *Legionella* nemzetség legismertebb faja, a *L. pneumoniae* 1976 óta ismert. Felismerésük egy Philadelphiában tartott veterán légióostálalkozóhoz kötődik, ahol a résztvevők megmagyarázhatatlanul nagy számban megbetegedtek tüdőgyulladás-ban. Később kiderült, hogy a betegséget a légkondicionáló rendszerből származó baktérium okozta, melyet *Legionellának* neveztek el. Ma már ismeretes, hogy ez a baktérium a vizek és talaj természetes flórájának tagja. Aerob, poláris flagellumokkal mozgó baktérium. Tenyésztése azért volt nehéz, mert növekedéséhez vasat, ciszteint és egyéb aminosavakat igényel. Az általuk okozott „**légiós**” **betegségben** elsősorban 50 év feletti, immunhiányos, vagy legyengült szervezetűek betegednek meg. Terjedni emberről emberre nem képes. Valószínűleg csak a kórokozó belégzésével (pl. légkondicionálók fertőzött vízből képződött aeroszólja) terjed.

Veszélyes humánpatogén törzsek tartoznak a *Neisseria* nemzetségbe. Kicsiny kokkoid sejtek, amelyek gyakran kettesével rendeződnek. Obligát aerob-, oxidáz- és kataláz-pozitívok. A *N. gonorrhoeae* a **gonorrhoea** (kankó, tripper) kórokozója. Nemi úton terjed, de az anyáról áterjed magzatára is, s a csecsemők megvakulásával jár. Gerinc- és agyvelőgyulladást okoz a *N. meningitidis*. Ez az orr és garatüregi nyálkahártyán keresztül kerül a szervezetbe. G- voltak ellenére penicillinekkal, cefalosporinokkal szemben érzékenyek.

A *Moraxella* fajok aerobok, sejtheik kicsiny kokuszok. Az emberi flóra tagjai, elsősorban a hártyás felületek gyulladását okozzák (conjunctivitis, meningitis, endocarditis).

A *Beijerinckia* nemzetség fajait légköri nitrogénkötő, poli-hidroxi-vajsav felhalmozó és tokpoliszaharidként alginátot termelő képességük miatt említjük.

A *Thermus* nemzetségbe termofil, pálcika alakú baktériumok tartoznak. Élőhelyeik a különböző hőforrások. *T. aquaticusból* izolálták az első, hőstabil DNS polimerázt, a *Taq* polimerázt, melyet a polimeráz láncreakcióban használnak.

Sárga pigmenttermeléséről kapta nevét a *Flavobacterium* nemzetség. Fajaik a normál emberi flóra tagjai, leginkább a fülváladékból ismerhetjük. Rossz higiénés viszonyok között fertőzhet is.

Gazdasági és egészségügyi szempontból egyaránt fontos genusz a *Brucella*. Kokusz, kokkobacillus vagy pálcika alakúak. Aerobok, de végső elektronakceptoruk az oxigén mellett nitrát is lehet. Kemoorganotrofok, egyes fajaik növekedési faktorkat, ill. szén-dioxidot igényelnek, ami obligát parazita, intracelluláris életmódjukkal magyarázható. A *B. melitensis* kecskéket, a *B. abortus* teheneket, lovakat, kutyákat, a *B. suis* sertést, a *B. ovis* juhót, a *B. canis* kutyát fertőz, s általában vetélést okoz. A brucellózis az állatokkal dolgozóakra veszélyes, de a nem pasztörözött tejjel is terjedhet. Az állatok és a veszélyeztetett emberek vakcinálása igen fontos.

Fontos patogén fajok tartoznak a *Bordetella* nemzetségbe. Sejtheik kicsiny kokkobacillusok. Növekedésükhöz nikotinsavat és szerves kén- és nitrogénforrást

igényelnek. A *B. pertussis* a **szamárköhögés** kórokozója. Cseppfertőzéssel terjed. A szimptomákért a pertussis nevű toxinja felelős, mely a légutak hámsejtjeinek fokozott hisztamin- és szerotonin-érzékenységét váltja ki. Erythromicinnel, tetraciklinekkel kezelhető. A DI-PER-TE védőoltás második tagja a pertussis elleni aktív immunizálást biztosítja előlt sejtekkel.

A *Francisella* genusz egyik faja a *F. tularensis*, a tularémia kórokozója. Rágcsálókban a fertőzés pestisszerű járványt okoz. Emberre fertőzött hússal, vérszívó rovarokkal, harapással terjedhet, s a bőrön kiütéseket, nyirokcsomó-duzzadást, tüdőgyulladást okozhat.

Fakultatív anaerob Gram-negatív pálcák

Ez is igen nagy, heterogén csoport. Sok humán és állatpatogén, s néhány növénypatogén faj tartozik ide. Három nagy csoportjuk az *Enterobacteriaceae*, a *Vibrionaceae* és a *Pasteurellaceae* család, összesen húsz nemzetséggel.

Az enterobaktériumok (elnevezésük előfordulási helyükre utal) közé peritrich vagy nem mozgó, G-, fakultatív anaerob baktériumok tartoznak. További csoportosításuk metabolikus aktivitásukon alapszik, ami azonban meghaladja jelen jegyzet kereteit. Az enterobaktériumok széles körben elterjedt, fontos baktériumok, melyekkel a laboratóriumban valószínűleg gyakrabban találkozunk mint bármely más baktériummal.

Az *Escherichia* nemzetségre tartozó *E. coli* kétségtelenül a legjobban tanulmányozott mikroorganizmus. K12 jelű törzse évtizedek óta biokémiai, genetikai, géntechnológiai kísérletek alanya. Az első géntechnológiai eredmények (plazmid izolálás és transzfórmáció) is ezzel a törzssel születtek. Peritrich flagellumokkal mozgó, szabályos, egyenes pálcák. Melegvérű állatok béltraktusában élnek, ahol nagyon hasznosak, mert egyrészt visszaszorítják más kórokozó baktériumok szaporodását, másrészt pedig vitaminnal látják el a szervezetet. Humánpatogén törzseik különböző, hasmennel járó tüneteket okoznak. A kórfolyamat kiváltásáért hőlabilis exotoxinja felelős.

Egyenes, nem mozgó pálcák alakú fajok tartoznak a *Shigella* genuszba. Emberben **vérhas** (dysenteria) okoznak. A fertőzés szájon át, fertőzött élelmiszerral történik. Ampicillinnel, kloramfenikollal, sumetrolimmal kezelhető. Legismertebb faj a *S. dysenteriae*. Tudománytörténeti érdekesség, hogy ennél a mikroorganizmusnál észlelték először az antibiotikum rezisztencia terjedéséért felelős önálló genetikai elemet, az ún. **R-faktort**.

Peritrich flagellummal mozgó egyenes pálcák a *Salmonella* genusz fajai. Sok humán és állatpatogén fajuk, s még több szerotípusuk ismert. A *S. typhi* a **hastifuszt**, a *S. paratyphi*, *S. typhimurium* és *S. enteritidis* pedig az enyhébb lefolyású, hastifuszszerű betegséget okozzák. A fertőzés itt is szájon át, fertőzött élelmiszerral történik. Felületi antigénjeik alapján rendkívül nagyszámú szerotípusos csoportba oszt-

hatók, ami a fertőző góc azonosításában igen hasznos. Ampicillinnel, kloramfenikollal, sumetrolimmal gyógyítható.

A *Klebsiella* genusz egyetlen fontos faja a *K. pneumoniae*, amely talajban, vízben, az ember emésztőrendszerében fordul elő. Patogén változatai tüdőgyulladás, fülgyulladást, hólyaghurutot okoznak. O és K antigénjük alapján nagyszámú szerotípusuk ismert.

A csoport névadó genusza az *Enterobacter*, mely vízben, talajban, az emberi emésztőtraktusban egyaránt előfordul. Egyes fajai anaerob körülmények között nitrogént képesek fixálni. Jelentős patogén fajuk nincs.

Az *Erwinia* nemzetség fajai valójában nem enterobaktériumok, mivel nem az ember és állatok emésztőrendszerében élnek, hanem szaprofiták és növénypatogének, de egyéb sajátágaik alapján mégis itt tárgyaljuk őket. Egyenes, peritrich pálcák. Az *E. amylovora* az almástermésűek újabbán sajnos egyre gyakoribb „tűzvész” elhalását okozza, az *E. carotovora* a burgonya, az *E. chrysanthemi* a krizantém, az *E. stewartii* a kukorica kórokozója.

Érdekességük miatt említjük a *Serratia* nemzetséget, melynek legismertebb faja, a *S. marcescens* egy élénkörös pigmentet, a prodigiosint termeli, ami a fertőzőtt mintának „véres” külsőt kölcsönöz.

A *Proteus* nemzetség sejtjei peritrich csillókkal mozognak. Szaprofita talajlakók, de az emberi bélflórában is előfordulnak. A *P. vulgaris* a vizeletkiválasztó rendszer súlyos fertőzését okozhatja. Igen erős proteolitikus hatásuk miatt fehérjék rothadásában fontosak.

A *Yersinia* nemzetség fajai kokkuszos vagy rövid pálcák. A *Y. pestis* kivételével peritrich csillóval mozognak, de csak 37 °C-on, 30 °C-on nem mozognak. A *Y. pestis* (korábban *Pasteurella pestis*) az évszázadokon keresztül periodikusan megjelenő rettegett járvány, a **pestis** kórokozója. A bacillusgazda az immunológiailag védett patkány, amelyről bolha viszi át az emberre. A véráramba kerülve napokon belül nyirokcsomó-duzzanat jön létre (bubópestis), majd pedig továbbhaladva tüdőgyulladás, meningitis, s egyéb gyulladási és szövetelhalási folyamatot indít el. A bőr észlelhető sötétedése miatt fekete halál néven is ismert. Mortalitása igen magas (50%) de tüdőpestis esetén 100%. Tetraciklinekkel, a bacillusgazdák irtásával, szigorú karanténnal védekeznek ellene. Formalinnal előlt kórokozóval aktív immunizálás lehetséges.

A fakultatív anaerob G- bacillusok másik nagy családja a *Vibrionaceae*. Egyenes vagy hajlott (vibroid), poláris flagellummal mozgó sejtek. Légzésre és fermentálásra egyaránt képes kemoorganotrofok. Természetes élőhelyük a víz, s a vízi állatok. Sok fajuk humán és állatpatogén. A *Vibrio* nemzetség fajai közül a *V. cholerae* a még ma is rettegett **kolera** kórokozója. A kórokozó exotoxinjával mérgez. Katalitikus alegysége az adenilát cikláz ADP-ribozilálásával permanensen aktiválja azt,

s ezzel megnöveli a cAMP-koncentrációt, s megváltoztatja a bélfal permeabilitását. Az így előálló vízserű hasmenés napi 10–15 liter víz- és ionvesztéssel jár. Infúzióval az igen magas mortalitás 1% alá csökkenthető. A fertőzés után tartós immunitás alakul ki. Előlt kórokozóval aktív immunizálás lehetséges, ami fertőzött területekre utazóknál elengedhetetlen.

Biolumineszcenciájuk és poli-hidroxi-vajsav akkumulálásuk miatt emljük a *Photobacterium* fajokat, melyek tengeri állatokkal élnek szimbiózisban.

A fakultatív anaerob G– bacillusok harmadik családjá a *Pasteurellaceae*. Kicsiny, pleiomorf, kokkobacillus formájú, nem mozgó sejtek.

A *Pasteurella* nemzetség fajai elsősorban háziállatok emésztő és légúti megbetegéseit okozzák. Az emberi flóra tagjai, ritkán megbetegedést is okoznak.

A *Haemophilus* nemzetség legismertebb faja a *H. influenzae*, mely fontos humán kórokozó. Nevével ellentétben azonban nem influenzát, hanem elsősorban gyermekekben agyhártyagyulladást okoznak. Tudománytörténeti érdekesség, hogy az első élőlény, amelynek genomját teljes egészében megszekvenálták. (Azóta már sok ilyen van!)

Anaerob Gram-negatív pálcák

Különböző alakú (egyenes, görbült vagy helikális) mozgó vagy nem mozgó, obligát anaerob, spórákat nem képező mikroorganizmusok (összesen 13 nemzetség) tartoznak ide. Ember és állatok szájüregében, bélrendszerében, bendőben élnek. A gazdaszervezet számára sokszor hasznosak.

Egyetlen nemzetséget, a *Bacteroides* említjük, melynek több mint 40 faja ismert. A *B. succinogenes* és *B. ruminicola* kerődzők bendőjében élnek. Az előbbi a cellulóz, az utóbbi a keményítő és pectinlebontást végzi. A humán fecesből izolált baktériumok mintegy 30%-a szintén ebbe a nemzetségbe tartozik. Egyes fajaik humán kórokozók. A *B. fragilis* különböző gyulladáshoz vezető megbetegedéseket (tüdő, mellhártya, agyvelő, vakbél) okoz. A *B. melaninogenicus* pedig fogászati problémákat okoz, s mivel fermentációjuk eredményeként vajsavat, proionsavat termelnek, igen kellemetlen szagúak.

Disszimilációs szulfát- és kénredukáló baktériumok

Morfológiailag sokféle, fiziológiailag azonban homogén csoport 9 nemzetséggel. Szigorúan anaerobok, elektron akceptoroként szulfátot, vagy elemi ként hasznosítanak, melyet az ún. anaerob légzés során kénhidrogénné redukálnak. Egyes fajaik kemoorganotrof fermentatív úton is képesek energianyerésre. A természetben a kén körforgásában játszanak fontos szerepet. Szennyvizekben, iszapban, szennyezett

tavakban gyakoriak. Legismertebb nemzetségeik: *Desulfovibrio*, *Desulfomonas*, *Desulfococcus*, *Desulfobacter*, *Desulfosarcina*.

Anaerob Gram-negatív kokkusok

Kisméretű sejteik egyedül, párban vagy láncot alkotva fordulnak elő. Nem mozgékony, kemoorganotrof fermentálók. A fermentáció végterméke szén-dioxid és víz. A többi anaerob baktériumokhoz hasonlóan kevésbé ismert csoport. Melegvérű állatok parazitái. Három nemzetség tartozik ide, melyek közül a *Veillonella* fajok az ember szájüregében, emésztő traktusában gyakoriak. Légző- és emésztőrendszeri betegségekben betöltött kórokozó voltak, ill. szerepük nem tisztázott.

Sejtélősködő Gram-negatív baktériumok

Az ide tartozó *Rickettsiales* és *Chlamydiales* rendekbe obligát intracelluláris sejtparaziták tartoznak. Mesterséges táptalajon általában nem tenyészthetők, csak szövetkultúrában. Sejteik igen kis méretűek. Patogenitásuk miatt a *Rickettsia* és *Chlamydia* nemzetségeket említjük.

A *Rickettsia* fajok emlős sejtek mellett gyakran élnek izeltlábúakban (tetvek, bolhák, kullancsok), melyek egyúttal a vektoraik is. Plazma membránjuk igen permeabilis, s a gazdasejt metabolitjait, koenzimjeit, valamint egy antiport transzportban ATP-jét közvetlenül felveszik és hasznosítják. Az *R. prowazekii* okozza a tetvek által terjesztett, bőrkiütéssel és tifuszszerű lázzal járó betegséget, a **kiütéses tifuszt**, vagy népies nevén **flekktifuszt**. Enyhébb lefolyású az *R. typhi* által okozott betegség. Az *R. rickettsii*, melyet kullancsok terjesztenek, észak-amerikában állatok kórokozói, de az emberre is veszélyesek (sziklás-hegységi láz).

A *Chlamydia* nemzetség fajai ugyancsak obligát sejtparaziták, szénhidrátok lebontására nem képesek, s ATP-jüket szintén a gazdasejtből nyerik ADP/ATP csereretranszportban. Ember és melegvérű állatok kórokozói. A *C. trachomatis* a fertőző szemgyulladás, a **trachoma** kórokozója, de légzőszervi, és genitális gyulladásokat is okozhat. A *C. psittaci* a papagálykór kórokozója, de átterjedhet emberre is (ornitózis), ahol leggyakrabban a tüdő és kiválasztószervek gyulladását okozza. A *C. pneumoniae* pedig az utóbbi időben az asztmás betegségben szenvedők gyakran végzetes kimenetelű fertőzését okozza.

Aerob kemolitotrof Gram-negatív baktériumok

Az ide tartozó baktériumok közös tulajdonsága a kemolitotrofia, azaz energiájukat szervesetlen anyagok oxidálásával nyerik, s szénforrásuk a szén-dioxid, azaz litoauto-

trofok. Néhány fajuk szerves szénforrást is hasznosít, ezek a litheterotrofok. A felhasznált szerves molekulák alapján négy csoportba oszthatók: **nitifikálók, szintelen kénbaktériumok, hidrogén oxidálók és fémeket oxidálók.** Itt tárgyaljuk továbbá a magnetotaktikus baktériumokat.

A nitifikáló baktériumok változatos alakúak, csillókkal mozognak. Gyakran kiterjedt citoplazmatikus membránnal rendelkeznek. Alakjuk, s az alapján, hogy ammóniát vagy nitritet oxidálnak, kilenc nemzetségbe osztjuk őket. Ökológiai jelentőségük óriási, hiszen a nitrátot a növények képesek hasznosítani.

A *Nitrobacter*, *Nitrospira*, *Nitrococcus*, *Nitrospina* fajok az ún. nitritoxidálók.

A *Nitrosomonas*, *Nitrosospira*, *Nitrosolobus*, *Nitrosovibrio* fajok pedig ammónia-oxidálók.

A szintelen kénbaktériumok (kén-oxidálók) is egy meglehetősen diverz csoport. Közös vonásuk, hogy energiát elsősorban szerves kénvegyületek (kénhidrogén, elemi kén, szulfidok, szulfitok, tioszulfát) oxidálásával nyernek.

Redukált kénvegyületek oxidálására, mint energiaforrásra az ide sorolt baktériumokon kívül más nemzetségek is képesek, de egyéb sajátosságuk miatt őket mással tárgyaljuk.

A *Thiobacterium*, *Macromonas*, *Thiovulum*, és *Thiospira* fajok kénhidrogén oxidálásával a sejten belül hoznak létre elemi ként tartalmazó zárványokat.

A *Thiobacillus* és *Thiomicrospira* fajok a sejten kívül hoznak létre kén-depozitokat.

A *Thiobacillus* fajok oxidációjának végterméke általában szulfát, s ezzel rendkívül savas környezetet hoznak létre. Az általuk termelt sav a beton és vasszerkezeteket korrodálja. Az elemi kén vízoldhatóvá tételével viszont hasznosak. Ércfém-tartalmának kinyerésére is használják.

A molekuláris hidrogéngázt használják energiaforrásként és szén-dioxidot szénforrásként az obligát kemolitotrof hidrogén baktériumok. Reprezentánsuk a *Hydrogenobacter thermophilus*.

A vas- és mangánoxidáló baktériumok elsődleges energiaforrása a kétértékű vas és mangán háromértékűvé oxidálása. Sejtjeikben feltűnőek a vas- és mangánoxidlerakódások. A *Siderococcus* és *Siderocapsa* nemzetségek az ismertebbek. Kiemelt szerepük van ezen fémek körforgalmában.

Rendszertanilag nem ide tartoznak, de itt is megemlítjük a magnetotaxisra képes baktériumokat, melynek reprezentánsa az *Acquaspirillum magnetotacticum*. Ezek a sejtjeiken belül magnetit kristályláncokat hoznak létre, s ezzel orientálják magukat. Érdekesként említjük, hogy magnetitkristályok madarak, halak és más állatok fejében is vannak, feltehetőleg ugyancsak a mágneses térben való navigációhoz.

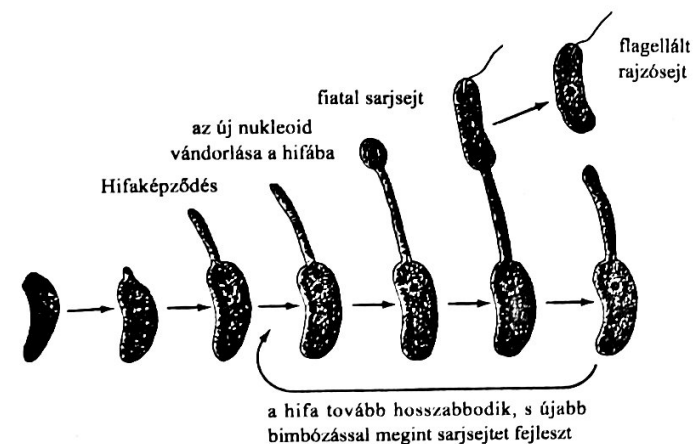
Különleges morfológiájú baktériumok

A *Scotobacteria* utolsó csoportja egy olyan gyűjtőkategória, ahová az összes G- nem fotoszintetizáló baktériumot besoroljuk, amely valamilyen különleges morfológiai sajátossággal rendelkezik.

A sarjadzó és/vagy függelékes baktériumok. Egysejtűként, vagy soksejtű asszociátumként fordulnak elő. Felosztásuk a függelék típusa és szaporodásuk alapján történik. A függelék lehet része a sejtnek, s ekkor benne hifaszerű nyúlványban citoplazma található (prostheca), ill. lehet a sejtnek kapcsolódó olyan képződmény, amely nem része az élő sejtnek (nonprostheca). Az osztódás alapján sarjadzó vagy haránt hasadással osztódó csoportokat különböztetünk meg. A teljesség igénye nélkül néhány reprezentánsukat mutatjuk be.

A *Hyphomicrobium* nemzetség fajai kemoheterotrof, sarjadzó aerobok, melyek gyakran tapadnak szilárd felülethez. Ovális sejtjeik hosszú, nyélszerű hifakinövést hoznak létre. A sejt nukleoidjának osztódása után a genom egy példánya ide vándorol, s a hifa végén történik meg a bimbózás. A bimbó érésével rajta flagellum jön létre, és szeptumképződéssel a sarjsejt leválik (4.13. ábra). További különleges sajátosságuk, hogy fakultatív metilotrofok.

Nem sarjadzó, hifaszerű függelékkel rendelkezők a *Caulobacter* fajok. Osztódáskor a sejt megnyúlik, a nyéllel ellentétes végén flagellum képződik, s a sejt aszimmetrikusan kettéfűződik, s az utódsejt leválik. Főként édesvizekben fordulnak elő.



4.13. ábra: *Hyphomicrobium* (nyeles sarjadzó baktérium) életciklusa

Nem celluláris függelékekkel rendelkező, sarjadzással osztódók a *Planctomyces* fajok. Vízi mikroorganizmusok. Aggregációkor jellegzetes rozettaszerkezetet hoznak létre. Elsősorban szerves anyagokban gazdag vizekben szaporodnak, azaz az eutrofizáció indikátorai.

Nem sarjadzó, nem celluláris függelékekkel rendelkező fajok tartoznak a *Gallionella* nemzetségbe. Obligát kemolitotrofok, energiát a vas oxidálásával nyernek. A nyélszerű sejtfüggelék jelentős része szerves anyag, elsősorban vasoxid. Telepeik nagyobb része ez a szerves anyag, mellyel edények falára tapadnak.

Hüvelyes baktériumok

Láncszerűen elhelyezkedő sejtjeiket egy csőszerű hüvely veszi körül. Általában vizekben élnek. A hüvely funkciója kettős. Egyrészt megkönnyíti az aljzathoz tapadást, s ezzel a táplálékszerzést táplálékban szegény vizekben, másrészt pedig védi a sejtet a ragadozó protozonok vagy pl. a *Bdellovibrio* fajok ellen.

Mixotrofok a *Sphaerotilus* nemzetség fajai. Kemoorganotrof és vasoxidáló kemolitotrof energianyeresre is képesek. A hüvelyük vas és mangán tartalmú. Sekély vizek alján gypszerű, rozsdabarna bevonatot képeznek. Különösen kedvelik a szennyvizeket.

Csúszva mozgó, termőtestet képező baktériumok (Mixobaktériumok)

Gram-negatív, aerob talajbaktériumok, DNS-ük G+C-tartalma magas (65–72%). Mintegy 30 faj tartozik ide. A legtöbb faj ragadozó. Antibiotikumokat választanak ki, amivel a többi baktériumot elpusztítják, majd pedig emésztőenzimeket, amelyekkel lebontják azok makromolekuláit, amelyeket aztán hasznosítanak.

Életciklusuk igen komplex, s sok tekintetben hasonlít a nyálkagombák életciklusára. Ha megfelelő a tápanyag-ellátottság, a szilárd felületen elcsúszva mozognak, nyálkás váladékot hagyva hátra. Ha a tápanyag kimerülően van, aggregációval és differenciálódással termőtestet hoznak létre, mely feltűnő színű a pigmenttermeléstől. A termőtestben nyugvó **mixospórák** jönnek létre, melyek életképességüket hosszú ideig megőrzik. Talán a legismertebb ide tartozó faj a *Mixococcus xantus*.

Csúszva mozgó, termőtestet nem képező baktériumok

Morfológiailag és fiziológiailag is rendkívül eltérő, egymással rokonsági kapcsolatban sem álló fajok tartoznak ide, melyek közös sajátossága a csúszva mozgás, mely egyes fajok esetén igen gyors, 600 $\mu\text{m}/\text{perc}$ is lehet. Sok aerob kemoheterotrof nemzetség tartozik ide, melyek cellulóz, kitin és más makromolekulák lebontására képesek, s a mozgékonyág a táplálékszerzésben előnyös. Mozgásukkal mindig az

ökológiailag legmegfelelőbb pozícióba (fény, oxigén, kénhidrogén, hőmérséklet stb.) igyekeznek kerülni. Jól ismert reprezentánsuk a *Cytophaga* nemzetség, melynek igen sok faja van. Egyesek élő sejtet is megtámadnak, s „fagocitálnak”.

Ugyancsak ismertebbek a *Beggiatoa* nemzetség fajai, melyek mixotrofok, redukált kénvegyületeket hasznosítva kemolitotrofok, szerves anyag jelenlétében viszont aerob kemoorganotrofok.

4.9.1.2. II. osztály: *Anoxyphotobacteria* (Gram-negatív, fotoszintetizáló, oxigént nem termelő baktériumok)

Az ebbe az osztályba tartozó bíbor és zöld baktériumok közös tulajdonsága, hogy oxigénigény és oxigéntermelés nélkül fotoszintetizálnak. A fotoautotrofia mellett azonban egyesek mixotrofok, szerves anyag jelenlétében heterotrofok, de van alternatív kemoautotrof is. Elektron donorként nem víz, hanem kénhidrogén, hidrogén, vagy szerves anyagok szolgálnak, s a szén-dioxid megkötése a redukív pentóz foszfát és redukív citromsavcikluson keresztül történik. Mindegyik tartalmaz bakterio-klorofilt, karotenoidokat, citokrómot és vastartalmú, nem hem típusú fehérjéket.

Bíbor baktériumok

Alakjuk igen változatos, gömbölyded, pálcika, spirális, vibroid lehet. Egyes fajaik flagellumokkal mozognak. Fotoszintetizáló membránrendszerük a citoplazma-membrán intracelluláris betüremkedései. Három nagyobb csoportba oszthatók.

A **bíbor kénbaktériumok** obligát anaerobok és többnyire fotolitotrofok. Elektromdonorként kénhidrogént használnak, s a ként intracelluláris granulomok formájában raktározzák, de képesek tovább oxidálni szulfáttá. A legismertebb ide tartozó nemzetségek a *Chromatium*, *Thiocystis*, *Thiospirillum*, *Thiocapsa*.

Az *Ectothiorhodospiraceae* család egyetlen nemzetsége az *Ectothiorhodospira*, melynek spirális, poláris flagellumokkal mozgó sejtjei a ként extracellulárisan halmozzák fel.

A **bíbor nem-kénbaktériumok** ugyancsak változatos morfológiájúak. Spirális, pálcika, félkör, teljes kör alakúak lehetnek. Általában anaerob fotoorganoheterotrofok, elektron- és szénforrásként szerves molekulákat használva. Fény hiányában kemoorganoheterotrofok. Ismertebb nemzetségeik a *Rhodospirillum*, *Rhodobacter*, *Rhodocyclus*, *Rhodopseudomonas*, *Rhodophila* és *Rhodomicrobium*.

Zöld baktériumok

Ezeknek is két nagy csoportjuk van, a **zöld kénbaktérium** és a **zöld nem kén baktériumok**. Morfológiailag igen sokfélék, kokkus, pálcá, vibroid és fonalas egyaránt lehet. A zöld kénbaktériumok obligát anaerob, fotolitoautotrofok. Elektronforrásuk a kénhidrogén, s a keletkező ként a sejten kívül halmozzák fel. Fotoszintetizáló pig-

mentjük a sejten belüli vezikulumokban, az ún. **chlorobium vesiculumban** vagy **kloroszómban** van, ami nem folytonos a citoplazma-membránnal. Különösen jól szaporodnak anaerob, szulfidgazdag környezetben. Nem flagelláltak, egyes fajaik a megfelelő környezetbe való eljutáshoz **gáz vakuolumokkal** rendelkeznek. Legismertebbek a *Chlorobium* nemzetség fajai.

Az egyetlen, tiszta kultúrában is rendelkezésre álló zöld nem kén baktérium a *Chloroflexus* csoport. Fotoheterotrof, fakultatív fotoautotrof és kemoheterotrof fajok. Termofil, fonalas növekedésűek, bakterioklorofil szintézisüket oxigén gátolja.

4.9.1.3. III. osztály: *Oxyphotobacteria* (Gram-negatív, fotoszintetizáló, oxigént termelő baktériumok)

Az ide tartozó baktériumok az algákhoz, mohákhoz és magasabbrendű növényekhez hasonlóan aerob fotoszintetizálók, elektront vízbontásból nyernek, és oxigént termelnek. Obligát aerobok, és **kettős autotrofok**, mivel nemcsak a szén-dioxid, hanem a nitrogén megkötésére is képesek. A *Cyanobaktériumok* és a *Prochloron* típusú baktériumok tartoznak ide. Az előbbieket klorofil a-t és fikobilineket, az utóbbiak klorofil a-t és b-t tartalmaznak. A fikobilinek kékeszöld színű fényelnyelő pigmentek, s erre utal a „kékeszöld alga” elnevezésük. Az elnevezés azonban az alga szó használata miatt helytelen, mivel ezek prokarioták.

Ismertségük és jelentőségük alapján csak a *Cyanobaktériumokat* tárgyaljuk.

A *Cyanobaktériumok* igen diverz csoport, több mint ezer fajuk ismert. Egysejtű, kisebb telepet képző és fonalas fajaik is vannak. Bár flagellumuk nincs, egyesek (pl. a *Synechococcus* fajok) eddig ismeretlen mechanizmussal mozogni képesek. Mások **gázvezikulumokkal** jutnak el a megfelelő mélységbe/magasságba a vízben. Kettéhasadással, bimbózással, fragmentálódással és egyetlen sejt többszörös osztódásával is szaporodhatnak. Egyes fajok ún. **akinétákat**, vastag falú nyugvó sejteket képeznek. Sok fonalas *Cyanobaktériumban* a nitrogénfixálás speciális sejtekben a **heterocisztákban** megy végbe. Nitrogénfixáló cisztákká a fonalak sejteinek mintegy 5–10%-a akkor alakul át, mikor nitrát és ammónia nem áll rendelkezésre. Ilyenkor a sejt szerkezete teljesen átalakul, mindent a nitrogénfixálásnak rendel alá. Genomját elveszíti, vastag sejtfalat szintetizál, fotoszintetizáló membránját átrendezi, megszabadul a fikobilinektől és a II. fotoszenzitív centrumtól, s ezzel energianyérését átalakítja. Csak ciklikus fotofoszfórilációra képes, oxigént nem termel, amellyel a nitrogénfixáláshoz elengedhetetlen redukáló miliót biztosítja. A megvastagodott sejtfal pedig a sejten belüli anaerob viszonyokat konzerválja.

Már a Prekambriumban megjelentek, a földi légkör oxigénnel való ellátása nekik köszönhető. Sokféle környezeti feltétel mellett képesek növekedni. Termofil és hidegtűrő fajaik egyaránt ismertek. Jelentős szerepük van a meleg évszakokban vizeink

eutrofizációjában. Az *Anacystis* és *Anabaena* fajok a tápanyagban dús vizek felszínén gyorsan elszaporodnak. Pusztulásuk igen sok szerves anyag kibocsátásával jár, s ez elősegíti heterotrof baktériumok elszaporodását, ami a víz oxigéntartalmát olyan mértékben lecsökkenti, hogy a halak és más vízi élőlények elpusztulnak. Minthogy **kettős autotrofok**, gyakran előfordulnak **szimbiózisban** is. Valószínűleg ezekből a szimbiózisokból származtatható a növények kloroplasztja is.

Néhány ismertebb nemzetségük a *Gloeobacter*, *Gloeocapsa*, *Dermocarpa*, *Anabaena*, *Anacystis*, *Nostoc*, *Synechococcus*, *Cylindrospermum*.

4.9.2. II. divízió: *Firmicutes* (Gram-pozitív baktériumok)

Rendkívül heterogén, nagy gyűjtőkategória. Közös tulajdonságuk a vastag peptidoglikán sejtfa. Külső membránjuk, és endotoxinjuk nincs. Gömb, pálcika és fonalas megjelenésű, mozgó és mozgásra nem képes, tokos és tok nélküli baktériumok tartoznak ide. Energianyérésük kemoorganotrof. Aerob, anaerob és fakultatív anaerobok egyaránt tartoznak a divízióba. Igen sok képviselőjük bír gyakorlati jelentőséggel.

4.9.2.1. I. osztály: *Firmibacteria* (Gram-pozitív kokkusok és pálcák)

Gram-pozitív kokkusok

Kemoheterotrof, mezofil, spórát nem képező G+ kokkusok tartoznak ide, melyeket az oxigénigényük, a sejtek összerendezettsége, kataláz és citokrómok megléte, a peptidoglikán szerkezete, valamint G+C-tartalmuk alapján osztunk genusokba.

A *Micrococcus* nemzetségbe aerob, kataláz pozitív, nem mozgékony kokkusok tartoznak, melyek párokat, tetrádokat, vagy szabálytalan halmazokat alkotnak. A legtöbb fajuk karotenoid pigmenteket termel, s színük sárga, narancssárga vagy vörös. Talajban, levegőben, vízben, tejben, emlősök bőrfelületén fordulnak elő. Nem patogének. Típustörzsük az *M. luteus*, mely nevét sárga színéről kapta, s általános előfordulása, gyors növekedése és igénytelensége miatt mikrobiológiai laboratóriumokban gyakran előforduló fertőző mikroorganizmus.

A *Staphylococcus* genusz fajai fakultatív anaerob, kataláz pozitív, nem mozgékony kokkusok, melyek szabálytalan, szőlőfürtszerű halmazokat alkotnak, aminek oka, hogy sejteik több síkban, hasadással osztódnak. Melegvérű állatok és az ember bőrén, nyálkahártyáján fordulnak elő. Gennykeltő kórokozók, a bőrfelületen gyakran okozzák tüszők, mirigyek, sebek gennyesedését, de felső légúti fertőzésekben is előfordulnak. Klinikai anyagban való gyakori előfordulásuk miatt viszonylag jól ismertek. Típustörzsük az *S. aureus*. Patogénitásukat az általuk termelt különböző enzimeknek köszönhetik. A legtöbb fajuk termel a vérplazmát kicsapó

koagulázt, valamint nagyszámú fehérje-, zsír-, szénhidrát- és nukleinsavbontó enzimet, melyek közül a bőr faggyúrétegét feloldó lipáz, s a kötőszövetbe történő behatolást segítő hialuronidáz a patogenitást szolgálják. Különböző kombinációkban négyféle (α -, β -, γ -, δ) exotoxint is termelnek, melyek közül az α hemolitikus hatása, letális. Többféle (hőstabil) enterotoxint is termelnek, melyeknek jelenleg 6 (A, B, C, D, E, F) szerotípusa ismeretes. Ezek a bélfal receptoraihoz kötődve hányást, valamint hasmenést okoznak. Említést érdemel még staphylokináz enzimük, mely a vérben lévő plazminogén aktiválásával fokozza a fibrinolízist. Bár G+ baktériumok, penicillinnel szemben a legtöbb törzsük rezisztens, mivel β -laktamáz enzimet termelnek, ezért csak a második-harmadik generációs β -laktám antibiotikumok hatásosak ellenük.

A *Dermococcus* nemzetségbe tartozó fajok aerob, kataláz pozitívok, sejtjeik párban vagy tetradokban fordulnak elő. Különleges sajátosságuk a membránjuk összetetele. Foszfatidil-glicerol foszfolipideket nem tartalmaznak, s nagy mennyiségben tartalmaznak palmitoleatot. Sejtjeik mind a kiszáradással, mind a sugárzással szemben igen rezisztensek.

A *Streptococcus* nemzetségbe fakultatív anaerob és anaerob, nem mozgékony, párban vagy lánc formában növő, szaprofita, kommenzalista és kórokozó fajok tartoznak. Patogenitásukat a *Staphylococcus*okhoz hasonlóan enzim- és toxintermelésüknek köszönhetik. A Bergey's Manual öt nagyobb csoportba (pyogén hemolitikus, orális, enterális, tejsavtermelő és anaerob *Streptococcus*-ok) osztja őket.

A pyogén (=gennyképző) *Streptococcus*ok általában patogének. Sebfertőzésekben, felső légúti gyulladások megbetegedésekben fordulnak elő.

Legismertebb fajuk az *S. pneumoniae*, mely a tüdőgyulladás kórokozója. Sejtjei párban fordulnak elő (régi neve *Diplococcus pneumoniae*, vagy röviden *Pneumococcus*). Tudománytörténeti érdekesség, hogy az öröklődésért felelős anyag mibenlétének meghatározására irányuló kísérleteit 1929-ben Griffith ennek a baktériumnak két (tokot képző patogén és tokot nem képző apatogén) variánsával végezte.

A *S. pyogenes* is fontos humán kórokozó. Az ún. erythrogén toxint (a bőr hámszálereit károsítja) termelő törzsei a skarlát (vörheny) kórokozói, de ezek a fajok okozzák a glomerulonephritist és a reumás lázt is. A pyogén *Streptococcus* törzsek általában penicillinérzékenyek.

Az orális *Streptococcus*ok (*S. salivarius*, *S. mutans*) a normál flóra tagjai, általában a szájban, felső légutakban élnek. Vastag poliszaharid tokot (dextrán, leván) képeznek, illetve csökkent oxigéntenzíó mellett intenzív savképzők, s így a fogszúvasodás kialakulásában fontos szerepet játszanak.

Az enterális *Streptococcus* fajok (*S. faecalis*) a normál bélflóra tagjai, opportunistá patogének. Húgyúti fertőzéseket, endocarditist okozhatnak. A többi *Streptococcus*tól eltérően sótoleránsak, még 6,5% NaCl-tartalmú táptalajon is nőnek.

A tejsavtermelő *Streptococcus*ok (*S. lactis*) aerotoleráns, apatogén baktériumok. Egyes törzseiket a tejiparban használják.

Anaerob *Streptococcus* fajok az *S. hansenii*, *S. parvulus*, *S. polymorphus*.

A *Leuconostoc* nemzetségbe fakultatív anaerob, megnyúlt vagy ellipszis alakú, párban vagy láncszerűen elrendeződött, kataláz és citokrómot nem tartalmazó fajok tartoznak. Heterofermentálók, aldolázuk nincs. Fermentáció során a pentóz-foszfát úton glükózból tejsav és alkohol keletkezik. A savanyítóiparban, tejiparban, ill. a *L. mesenteroides* dextrángyártásra használják.

A *Ruminococcus* fajok anaerob, fermentatív, kemoorganotrof baktériumok, melyek a bendőben a cellulóz és egyéb poliszaharidok lebontását végzik.

A *Sarcina* nemzetség fajai anaerob kokkuszkok, melyek a három síkban történő osztódás eredményeként kockaszerű csomagocskába rendeződnek. A *S. ventriculi* érdekessége, hogy vastag fibrózus réteg borítja, amelynek fő komponense a cellulóz. Igen savtoleráns, mivel még a gyomor alacsony (pH=1) pH-ján is életképes.

Endospórát képező Gram-pozitív pálcák és kokkuszkok

A csoportba hat nemzetség tartozik. Bár a *Thermoactinomyces* fajok is G+ spóráképzők, fonalas növekedésük miatt mégsem itt, hanem a *Thallobaktériumok* között tárgyaljuk őket. Az ismertebb nemzetségekbe tartozó fajok egyenes vagy görbült pálcá alakúak, de a kevésbé ismertek között kokkoid formájúakat is találunk. Kemoorganotrofok, aerob és obligát anaerob fajok is tartoznak a csoportba. A bakteriális endospóra egy kerek vagy ovális intracelluláris szerkezet, amelyet kívülről a belseje felé haladva spóráköpeny, kortex és membrán vesz körül, s rendkívüli ellenállóképességgel rendelkezik (l. fentebb). Egyes fajok endospórái nagyok, kidagasztják a sejtet, bunkós formát kölcsönözve neki. A legtöbb ide tartozó faj természetes élőhelye a talaj, ahol a környezeti viszonyok szárazság és tápanyagellátás szempontjából szélsőségesek. Ebben a környezetben az endospórák kifejezetten szelekciós előnyt jelentenek.

A *Bacillus* nemzetségbe kataláz pozitív, aerob és fakultatív anaerob spóráképző fajok tartoznak. Az egyik legjobban ismert fiziológiájú és genetikájú G+ nemzetség, melyet részben patogenitásuk, részben pedig az általuk termelt antibiotikumok és rovarellenes szerek magyaráznak.

Legismertebb apatogén fajok a *B. subtilis*, mely fiziológiai és genetikai vizsgálatok közkedvelt objektuma.

A *B. anthracis* az anthrax vagy lépfene kórokozója. Tudománytörténeti érdekesség, hogy *B. anthracis* esetében sikerült először a baktérium jelenléte és egy megbetegedés közötti összefüggést kísérletesen is igazolni (Robert Koch, 1877). Később Louis Pasteur ennek a betegségnek kapcsán bizonyította a vakcináció hasz-

nosságát. Az antrax elsősorban juhok, szarvasmarhák, lovak betegsége, emberre ritkán terjed. Az emberi szervezetbe sebfertőzéssel, enterális úton (fertőzött állat húsnak fogyasztásával), s ritkábban inhalációval jut, ahol elszaporodva exotoxin termelésével fertőző hatását, hő-, bél- vagy tüdőantraxot okozva. A betegség igen gyors lefolyású, s néhány óra alatt halálos kimenetelű lehet.

A *B. cereus* a leggyakoribb *Bacillus* faj, mely talajban, levegőben egyaránt előfordul, s egyes ételekben elszaporodva (pl. rizs, krumpli, húsok) enterotoxin-termeléssel bél- és emésztőszervi panaszokat okoz.

Néhány *Bacillus* faj (*B. polymyxa*, *B. licheniformis*, *B. brevis*, *B. subtilis*) antibiotikumot (polymyxin B, gramicidin, tyrocidin, edein, bacitracin) termel. Ezek peptid antibiotikumok, s érdekességük, hogy olyan oligopeptidok, amelyek a fehérjékben előforduló 20 aminosavon kívül ún. fehérjékben elő nem forduló aminosavakat is tartalmaznak, s szintézisük nem riboszóma felületén, mRNS által meghatározottan, a megszokott translációs mechanizmussal történik, hanem egy több száz ezer Dalton molekulatömegű enzim szintetizálja őket az ún. tiol-templát mechanizmussal. Egyes fajaik ipari enzimtermelésben (lúgos proteáz a mosószeriparnak, α -amiláz stb.) jelentősek. Megint más fajaik rovarellenes szereket termelnek. A *B. thuringiensis* pl. az endospóráképzés során egy, a spóra mellett elhelyezkedő kristályos fehérjét termel, mely *Lepidoptera*k ellen hatásos. Ez egy olyan toxin, amely a hernyók lúgos béltraktusában feloldódva az epithelialis sejteket tönkreteszi, s a beltartalom a vérkeringésbe jut, melynek következtében azok elpusztulnak.

A *Sporolactobacillus* nemzetségbe egyenes pálcák alakú, mikroaerofil, fermentatív fajok tartoznak. Kataláz- és citokróm-negatívak. A *Lactobacillus*okhoz hasonló homofermentálók, s katalázhiányuk ellenére mikroaerofilek.

Zömében obligát anaerob spóráképző fajok a *Clostridium* nemzetség tagjai, melyek számára az oxigén toxikus, mivel kataláz- és peroxidáz-negatívak, s az oxigénből a flavin enzimrendszerük által létrehozott peroxidot nem tudják lebontani. Egyes fajaik mikroaerofilek. Pálcika alakúak. Spóráik nagyok, kidagasztják a sejtet. Kemoorganotrofok, cukrok vagy fehérje bontásával jutnak energiához. Jellegzetes erjedési termékük a kellemetlen szagú vajsav. Egyes fajok erjesztőképességét (*C. acetobutylicum*) ipari oldószergyártásban hasznosítják. Néhány fajuk igen veszélyes kórokozó. A *C. tetani* tetanuszt (merevgörcs) okoz, mely halálos kimenetelű lehet. Ez a peritrich csillós, pálcika alakú baktérium a lovak bélcsatornájában él. Onnan a trágyával kikerülve fertőzhet nyílt sebeket, melyek látszólagos begyógyulása után, anaerob körülmények mellett az endospóra kicsírázik. A vegetatív sejt különböző enzimek mellett hőstabil exotoxint termel. Ez egy plazmidon kódolt, 160 000 Da molekulatömegű fehérje, mely enzimatikusan kettéhasadva növeli aktivitását. Acetilcolinészteráz-gátló hatása következtében az acetilkolin nem bomlik

le, másrészt blokkolja a gátló neuronokat. Ezek következményeként áll be a merevgörcs, mely légzésbénulás miatt fatális kimenetelű lehet. A toxin rendkívül kis koncentrációban hatásos. Ma már a DI-PER-TE kombinált védőoltás részeként (TE) kötelező védőoltás van ellene. A vakcina a tetanusz toxin inaktivált formáját tartalmazza. A *C. perfringens* az ún. gázzangrénát okozza. Patogenitását a termelt toxin és enzimek mellett az intenzív gázképződés szövetroncsoló hatása is fokozza. A *C. botulinum* a botulizmus kórokozója. Az elnevezése a fő veszélyforrásra, a kolbászra (botulus) utal. Házilag készült kolbászokban, disznósajtban, húsokban, rosszul sterilizált konzervekben szaporodhat el. Nyolcféle exotoxinja közül három (A, B, E) rendkívül hatásos mérge, már 1 μ g is halálos. Mérgezés esetén csak a trivalentis antitoxintól lehet eredményt remélni. A toxin főzéssel inaktíválható. Termelése virális gén kontrollja alatt áll.

A *Desulfotomaculum* nemzetség fajai anaerob, egyenes vagy enyhén görbült, peritrich pálcák. Szulfátot, vagy elemi ként redukálnak kénhidrogénné.

További ide tartozó nemzetségek a *Sporosarcina* és az *Oscillospira*.

Szabályos, endospórákat nem képező Gram-pozitív pálcák

Kemoheterotrof, zömében nem mozgékony, spórákat nem képező fajok tartoznak ide.

A *Lactobacillus* nemzetségbe fakultatív mikroaerofil, kataláz- és citokrómot nem tartalmazó fajok tartoznak. A légköri oxigén jelenlétében képződő peroxidot egy Mn tartalmú enzim, az ún. pszeudokataláz bontja. Energianyerésük fermentatív. A homofermentatív fajok csak tejsavat, a heterofermentálók tejsav mellett etanolt és ecetsavat termelnek. Savanyítóipari, tejipari felhasználásukat l. a 11. fejezetben. A *Lactobacillus* fajok az emberi test normál flórájának tagjai. A testüregekben uralkodó körülményekhez alkalmazkodnak, s a gazdaszervezet számára előnyös körülményeket alakítanak ki, mivel tejsavtermelésükkel elnyomják a fertőző baktérium- és gomba-törzseket.

A csoport másik fontos nemzetsége a *Listeria*, melybe rövid, pálcika alakú, aerob vagy fakultatív anaerob, peritrich ostorokkal mozgó fajok tartoznak. A természetben gyakoriak, főleg rothadó, korhadó hulladékokon találhatóak. Humánpatogén fajok az *L. monocytogenes*, mely agyhártyagyulladás okoz. Állatokkal dolgozók gyakrabban fertőződhetnek, mivel állatról emberre terjedhet.

Említést érdemel még az *Erysipelothrix* nemzetség, melynek egyik faja az *E. rhusiopathiae*, a sertésorbánc kórokozója.

4.9.2.2. II. osztály: *Thallobacteria* (Gram-pozitív, elágazó, fonalas növekedésű baktériumok)

A *Thallobacterium* osztályába tartozik minden olyan G⁺ baktériumnemzetség, amelynek fajai növekedésük során telepképzésre utaló elágazásokat hoznak létre.

Szabálytalan, nem spórázó Gram-pozitív pálcák

Szabálytalan alakú, aerob, fakultatív anaerob, sőt néhány anaerob nemzetség fajai tartoznak ide. A pálcikák lehetnek egyenesek, hajlottak, vagy végükön megvastagodott, bunkószerű képletek. Nagyszámú genusz tartozik ebbe a csoportba, melyek közül csak a legfontosabbakat említjük.

A *Corynebacterium* nemzetségbe aerob és fakultatív anaerob, kataláz pozitív, kemoorganotrof, egyenes vagy enyhén hajlott pálcika alakú, és bunkós végű sejteket képező fajok tartoznak. A sejtfal lipidtartalma (a később tárgyalandó *Mycobacterium*okhoz hasonlóan) jelentős. A *Corynebacterium*okban található mikolsavak (α -szubsztituált, β -hidroxil zsírsavak) lánchosszúsága 29–40 szénatomszám között változik. Jellemző, hogy sejtosztódást követően a sejtheik fűrészfog vagy Y-szerű elrendezésben együtt maradnak. Sok fajuk ismeretes, melyek közül a *C. diphteriae* a torokgyík (diftéria) kórokozója. A betegségért a baktérium exotoxinja felelős, melynek génjét egy temperált bakteriofág hordozza. A faggal fertőzött sejtek egy 62 kD tömegű, két alegységből álló, diszulfid híddal összekötött fehérjét szintetizálnak. A toxikus hatásért a kisebb, 24 kD tömegű fehérje felelős, amely katalitikus hatása. A NAD hidrolízisével ADP-ribozil egységet kapcsol az eukarióta fehérjeszintézis egyik elongációs faktorához (EF2), inaktíválva ezzel a molekulát. Mivel katalitikus hatásról van szó, egyetlen toxinmolekula képes egy sejt teljes fehérjeszintézisét leállítani. Fertőzés után tartós immunitás marad. Ma már aktív védőoltás van ellene. A DI-PER-TE első eleme (DI) a diftéria elleni anatoxin.

Több növénypatogén fajuk is ismeretes. A *C. michiganense* a paradicsom, a *C. insidiosum* a lucerna, a *C. sepedonicum* pedig a burgonya hervadásának kórokozója.

A *C. glutamicum* prototrof törzseit az iparban glutamáttermelésre, bizonyos mutánsait pedig egyéb aminosavak, pl. lizintermelésre használják.

Az *Arthrobacter* nemzetség fajai aerob, kataláz-pozitív pálcák. Sejtfalukban lizint tartalmaznak. Jellemző tulajdonságuk, hogy sejtheik alakja az életciklus folyamán változik. Az exponenciális fázisban elágazó, szabálytalan alakú pálcák, a stacioner fázisban pedig kokkus alakúak. A kokkusok friss táptalajra átvive újra elágazó pálcák alakban nőnek. Leggyakoribb élőhelyük a talaj, ahol komplex szerves molekulák lebontásában játszanak szerepet, de növényvédő és rovarellenes szereket is képesek lebontani.

A *Propionibacterium* fajok kemoorganotrof, pleomorf anaerob, illetve acetotoleráns baktériumok. Fermentációjuk során nagymennyiségű propionsavat és tejsavat termelnek. Tejtermékekben és silóban fordulnak elő. Egyes fajukat a sajtgyártásban használják, fontos izanyagokat kölcsönöznek a sajtoknak.

Aerob vagy fakultatív anaerob fajok a *Cellulomonas* nemzetség tagjai. Jellemző tulajdonságuk a cellulózbontó exoenzim-termelés.

A *Bifidobacterium* pleiomorf fajok sejtei a bifid (elágazó Y) sejtek mellett V alakot is formálhatnak, vagy paliszád elrendeződést is felvehetnek. Anyatejjel táplálkozó csecsemők bélflórájának domináns tagjai. Anaerobok. Speciális heterofermentáció jellemzi őket, melynek végeredménye 3:2 arányban ecetsav és tejsav.

Az *Actinomyces* nemzetségbe tartozó fajok sejtei egyenes vagy enyhén hajlott pálcika alakúak, melyek elágazó fonalakat hoznak létre. Anaerobok, vagy fakultatív anaerobok. Optimális növekedésükhöz szén-dioxidot igényelnek. Fermentációjuk végeredménye hangyasav, ecetsav, tejsav, borostyánkősav. Leggyakrabban melegvérű állatok szájüregében fordulnak elő, ahol a fogak megbetegedését okozzák.

Mycobacteriumok

Aerob, nem motilis, egyenes, vagy enyhén hajlott pálcika alakú, néha elágazó, fonalas növekedésű baktériumok tartoznak ebbe a csoportba, egyetlen nemzetséggel. A fonalszerű képletek abban különböznek az *Actinomyces*ektől, hogy a legkisebb beavatkozásra egyedi sejtekre esnek szét. Növekedésük rendkívül lassú. Komplex táptalaj felületén néha 40 napig is kell inkubálni, míg látható telep alakul ki. Sejtfaluk lipidtartalma igen magas, ezért sáválló festés jellemzi őket. Jellemző lipidjük a 60–90 szénatomszámú mikolsav. Ez olyan komplex zsírsav, mely β -szénatomján OH-csoportot, α -szénatomján pedig alifás szénláncot tartalmaz. Egyes fajuk szaprofiták, de legismertebbek a patogén fajaik. A *M. tuberculosis* a gümőkór vagy TBC kórokozója. Légúti vagy emésztőtraktuson keresztül fertőz, de a vér- és nyirokrendszeren keresztül a többi szervre is áttérjed. Nevét onnan kapta, hogy a szervezet immunválasza következtében csomókat alkot a megtámadott szövetekben. Valamikor félelmetes népbetegség volt, s a szakirodalom **Morbus Hungaricus**ként tartotta számon, ami a hazai populáció nagyarányú fertőzöttségére utalt. Az elmúlt évtizedekben visszaszorult, de újabban a megbetegedések száma megint emelkedik. Az *M. bovis* a szarvasmarhák, az *M. avium* a baromfi tuberkulózisának kórokozója. Az *M. bovis* gyakran emberre is áttérjed. Sokáig a fertőzött szarvasmarha-állomány volt a fertőző forrás, a nyerstej fogyasztásán keresztül. Leggyakrabban tüdő tuberkulózist, ritkábban csont- vagy vese-TBC-t okoz. Csecsemőkorban a kötelező aktív immunizálás **BCG védőoltással** történik, ami legyengített *M. bovis* sejteket tartalmaz (bacillus Calmette-Guerin).

Az *M. leprae* a lepra kórokozója. Jelenleg is mintegy 10 millió ember szenved ebben a szörnyű, korábban egyáltalán nem gyógyítható betegségben, elsősorban a trópusokon. A kórokozó nem tenyészthető, immunitás nem jön létre. A fertőzés első jelei a bőrön tapasztalhatók, kisebb léziók formájában, majd a perifériás érzőidegeket támadja meg. Később az idegi degeneráció folytatódik, egész végtagok halnak el, s spontán amputáció is bekövetkezik. Újabban a tuberkulózis elleni szerek (PAS, streptomycin, rifampicin) a lepra ellen is sikerrel kecsesgetnek.

A *Thallobacterium*okon belül elkülönítve szokás tárgyalni az *Actinomycetákat*, melyek közös sajátása fonalas, telepképző növekedésük, DNS-ük magas G+C-tartalma és spóráképzésük.

Nocardia-formájú Actinomyceták

Tizenegy G+ baktériumnemzetség tartozik ebbe a csoportba, amelyek közös tulajdonsága a gombákhoz hasonló miceliális növekedés, amely micélium azonban mechanikai hatásra könnyen szétesik pálcika alakú, vagy kokkoid sejtekre. A táptalajt átszövő elágazó micéliumhálózatot szubsztrát micéliumnak hívjuk. Egyes fajok a táptalajból a levegőbe kiemelkedő micéliumot, az ún. légmicéliumot is képeznek. A légmicéliumon képződhetnek az aszexuális kitaró sejtek, a spórák. DNS-ük G+C-tartalma a többi *Actinomycetához* hasonlóan magas. Kemoorganotrof, s többségében szigorúan aerob, kataláz-pozitív mikroorganizmusok.

A *Nocardia* nemzetség fajai talajban és élővizekben egyaránt előfordulnak. Egyes fajaik az alifás és aromás szénhidrogének lebontására képesek, ezért olaj- és üzemanyag-szennyezések eltávolítására használhatók. Néhány fajuk opportunistá patogén, elsősorban sebfertőzéseket okoznak. Néhány törzsük β -laktám típusú antibiotikumot termel.

A *Rhodococcus* nemzetségbe kokkus vagy rövid pálcika alakú aerob fajok tartoznak, melyek sokféle szervesanyag lebontására képesek. Némely fajuk kórokozóként is ismert.

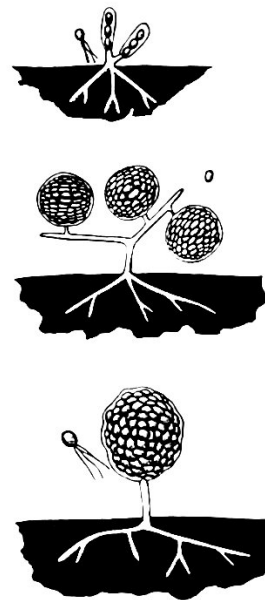
Sporangiumot képező Actinomyceták (*Dermatophil csoport*)

Olyan nemzetségek tartoznak ide, melyekben a túlélést szolgáló sejtek, a spórák külön spóratartóban, a sporangiumban tömörülnek. Több síkban osztódó *Actinomycetáknak* is hívják őket, mivel hifafonalaik hossz- és keresztirányban is szeptálódnak. Három nemzetség tartozik ide. A *Geodermatophilus* nemzetség fajai aerob motilis spórával rendelkező talajbaktériumok. A *Dermatophilus* nemzetségbe aerob és fakultatív anaerob, motilis spórák képző, patogén törzsek tartoznak. Bőrfertőzéseket okoznak. A *Frankia* nemzetség fajai kemoorganotrof, aerob vagy mikroaerofil, igen

lassan növény baktériumok. Különösen érdekesek, mivel általában zárvatermő növények gyökereiben, szimbiózisban élnek, s **nitrogén megkötésére** képesek. A *Rhizobium* fajokhoz hasonlóan gümöket képeznek, nitrogénkötésük oxigénre érzékeny, s molibdént és kobaltot igényel. Nitrogénmegkötő képességük olyan intenzív, hogy a növények nitrogénellátására elegendő. Mivel a *Rhizobium* fajokkal ellentétben nemcsak a pillangósvirágú növényekkel, hanem egy sor növény családdal képesek szimbiózisra, növény-géntechnológiai felhasználásuk ígértes.

Actinoplanatések

A csoportba tartozó öt nemzetség mozgékony, vagy nem mozgó spórái különleges spóratartóban képződnek. Egyes nemzetségek (*Actinoplanes*, *Ampullariella*, *Pilimelia*) fajai gömb, cylinder vagy szabálytalan alakú spóratartót hoznak létre, melyben néhány, vagy több ezer spóra is lehet. (4.14. ábra). A *Dactylosporangium* fajok kézujszerűen elrendeződő spóratartót hoznak létre. A *Micromonospora* fajok finoman elágazó fonalakkal álló telepet képeznek. Elsősorban aminoglikozid típusú antibiotikumok termelése miatt iparilag is jelentősek.



4.14. ábra: Spóratartók morfológiája különböző Actinomycetákban

Streptomycesek

A *Streptomyces*ek közé négy nemzetség (*Streptomyces*, *Streptoverticillium*, *Kineosporea*, *Sporichthya*) tartozik, melyek közül kiemelkedő jelentőségűek a *Streptomyces*ek. Rendkívül sok fajuk ismeretes, bár ebben kétségtelen szerepe van annak, hogy antibiotikum-termelésük miatt minden egyes új izolátumot új név alatt igyekeztek leírni. Így valójában ugyanaz a törzs több név alatt is szerepel. A *Streptomyces* taxonómia fejlődésével a törzsek száma jelentősen csökkent és várhatóan tovább csökken. Az ide tartozó fajok szigorúan aerobok, kemoorganotrof, kataláz pozitívak, és nem mozgékony spórákat képeznek. A spórák általában pigmentáltak. Az egyes fajok elkülönítése a morfológiai és olyan fiziológiai bélyegeken alapszik mint a lég- és szubsztrátmicélium színe, spórák elrendeződése, spórák felülete, szénhidrát-fogyasztás, melanintermelés, nitrátredukció, ureahidrolízis stb. A *Streptomyces*ek igen fontosak ökológiai és gyógyászati szempontból is. Talajlakó baktériumok, ahol fontos szerepük van a mineralizálásban. Igen sokféle exoenzimot termelnek, melyekkel a pektint, kitint, keratint, latexet és egyéb szerves molekulákat is képesek lebontani. *Streptomyces*ek termelik a ma ismert és gyakorlatban alkalmazott antibiotikumok (aminoglikozidok, tetraciklinek, kloramfenikol, makrolid, polién, második generációs β -laktám stb.) mintegy 60–70%-át. Bár legtöbb fajuk nem patogén, kerülnek köztük növény- (*S. scabiei* a burgonyagyomó varrasodását okozza) és humánpatogén (*S. somaliensis* amely actinomycetómát okoz) fajok is.

Maduromycetes

Hét nemzetség (*Actinomadura*, *Microbispora*, *Microtetraspora*, *Planobispora*, *Planomonospora*, *Streptosporangium*, *Spirillospora*) tartozik ide. Aerob *Actinomyceták*. Közös sajátosságuk, hogy sejtfalukban madurózt (3-O-metil-D-galaktózt) tartalmaznak. Szubsztrát- és légmicéliumot egyaránt képeznek. Ez utóbbin spórák alakulnak ki. Egyes fajaik spórája rendkívül hőtűrő, némelyek antibiotikumot termelnek.

Thermomonospora

Négy nemzetség (*Thermomonospora*, *Actinosynnema*, *Nocardiopsis* és *Streptoalloteichus*) tartozik ebbe a csoportba. Aerob, spórás, mezofil és termofil *Actinomyceták*. A *Nocardiopsis* fajok micéliuma a *Nocardioform* fajokhoz hasonlóan fragmentálódik, de sejtfaluk mikolsavat nem tartalmaznak.

Thermoactinomycetes

Egyetlen nemzetség, a *Thermoactinomyces* tartozik ide. Bár növekedésük miceliális, ezért is sorolják az *Actinomyceták* közé, de spóráképzésük alapján inkább a *Bacillus* nemzetséghez hasonlítanak, hiszen valódi endospórákat képeznek. Aerob, szaprofita, termofil szervezetek. Élőhelyük a talaj, növényi maradványok. Nedves, jól levegőző takarmányokban olyan gyorsan szaporodnak, hogy a felszabaduló hő igen gyakran öngyulladásra vezet. A *T. vulgaris* okozza a „farmer tüdő”-nek nevezett allergiás betegséget, mely elsősorban a mezőgazdasági munkásokat érinti.

4.9.3. III. Divízió: *Tenericutes*

4.9.3.1. I. osztály: *Mollicutes* (Sejtfal nélküli baktériumok)

Az ide tartozó eubaktériumok közös megkülönböztető jegye a sejtfal hiánya, ezért G⁻ festődésűek. A sejtfal hiánya miatt további közös sajátosságuk az ozmotikus érzékenységük, penicillin és más sejtfal szintézisre ható antibiotikumokkal szembeni rezisztencia, pleomorfizmus és könnyen deformálható alak, ami lehetővé teszi, hogy baktériumszűrőkön is átmenjenek. További közös tulajdonságuk, hogy eukarióta sejtek parazitái, s komplex növekedési faktor igényük (aminosavak, zsírsavak, nukleotidok, szterol) van. Telepjeik kicsik, lassan fejlődnek, s szilárd táptalajon megjelenésük mellbimbó vagy tükörtojás formájú. Bár sejtfaluk nincs, membránjukhoz kívülről poliszaharid kapcsolódik, melynek szerkezeti funkciója lehet, s részben kompenzálja a sejtfal hiányát. Általában mozgásképtelenek, de néhány fajuk csúszva változtatja a helyét, illetve ismét mások spirálisan elhelyezkedő fonalszerű képletek segítségével forogva mozognak. Genomméretük igen kicsiny, kb. 10⁹ Dalton. Korábban evolúciós eredetük kétséges volt. Ma már 16S rRNS szekvencia-adatok egyértelműen koherens filogenetikai összetartozásukat bizonyítják. Az ide tartozó öt genusból négynek a metabolizmusa fermentatív, aminek oka a kinonok és citokrómok hiánya. Elektrontranszport rendszerük csökevényes volta miatt, a NADH regenerálását a citoplazmában (vagy az *Acholeplasma* fajok esetén a membránban) elhelyezkedő NADH oxidáz végzi. Sejtosztódásuk kettéhasadással, vagy fonalszerű növekedést követő fragmentálódással történik.

A *Mycoplasma* nemzetség fajai (közel 70 fajuk ismert) fakultatív anaerobok. Emlősök és madarak parazitái. Elsősorban a légző (*M. hominis*, *M. salivarum*, *M. orale*) és nemiszervek, beleértve a húgyhólyagot és húgyvezetékét is (*M. genitalia*) nyálkás hátyáit, valamint az ízületek megbetegedéseit okozzák. Leggyakoribb általuk okozott megbetegedés a **pleuropneumonia**. A tüdőgyulladást okozó *Mycoplasma* fajokat együttesen PPLO (pleuropneumonia like organism) betűszóval jelölik.

Az *Ureaplasma* nemzetség fajai energiájukat karbamid hidrolízisével nyerik. Növekedésük jobb, ha szén-dioxidban gazdag a légtér, feltehetőleg azért, mert ez részben semlegesíti a karbamid hidrolízisekor képződő ammóniát. Mikroaerofilek. Emberek és állatok légzőszerveiben, szemében és urogenitális szerveiben élnek, azok gyulladásszerű megbetegedéseit okozzák.

Az *Acholeplasma* nemzetség fajai növekedésükhöz szterolt nem igényelnek, különbözve ezzel az összes többi *Mollicutes*-tól. Ez azonban nem jelenti azt, hogy szterolt képesek szintetizálni. Egyes fajok a szterol helyett (hasonló, membrán stabilitást fokozó funkcióval) karotenoidokat építenek membránjukba, más fajok pedig szterol nélkül is képesek membránstruktúrájukat fenntartani. Ha azonban szterolt adunk a táptalajba, azt beépítik membránjukba.

A *Spiroplasma* nemzetség fajai elsősorban ízeltlábúak és növények kórokozói, azok hemolimfájában, gyomrában, nyálmirigyében, illetve növények szállítószövetében találhatók. 0,2 μm átmérőjű, és 3–5 μm hosszúságú sejtjeik spirális lefutásúak. A *Spirocheta* fajok mozgására emlékeztető mozgásra képesek, amit feltehetőleg a bennük található kontraktilis fibrillumnak köszönhetnek.

Az *Anaeroplasma* nemzetség tagjai szigorúan anaerob baktériumok, melyek a szarvasmarhák és juhok bendőjében élnek. Fermentációjuk során különböző savakat (hangyasav, ecetsav, propionsav, tejsav, borostyánkősav), valamint etanolt és szén-dioxidot termelnek. Néhány fajuk bakteriális sejtfalbontó enzimeket termel.

4.9.4. IV. Divízió: *Mendosicutes*

4.9.4.1. I. osztály: *Archaeobacteria* (Ősbaktériumok)

Ebbe az osztályba olyan prokarióták tartoznak, melyek morfológiailag és fiziológiailag is meglehetősen eltérő tulajdonságúak. Az eubaktériumoktól jelentősen eltérő tulajdonságokkal (sejtfallösszetétel, sejtmembrán-összetétel, genomszerveződés, és olyan molekuláris bélyegek, mint a riboszomális RNS-szekvenciák, ribotimidin helyett pszeudouridin a tRNS-ükben, kloramfenikol rezisztens fehérjeszintézis, β -laktám rezisztencia, szén-dioxid-fixálás nem Calvin-cikluson, hanem vagy acetyl-CoA-n keresztül, vagy redukív citromsavciklusban stb.) rendelkeznek. Olyan extrém környezeti viszonyok mellett élnek, ahol a legtöbb élőlény elpusztul. Bár prokarióták, de filogenetikailag nagyon eltérnek az *Eubaktériumoktól*. A legvalószínűbb, hogy egy közös ősből származnak, de külön úton fejlődtek. Alakjuk szerint lehetnek kokkusok, pálcák, fonalas vagy mycoplazmaszerű képletek. Festődésük szerint G+ és G- fajaik egyaránt vannak.

A Bergey's Manual öt nagy csoportba osztja őket, amelyeken belül további tagolás történik, ezek azonban meghaladják ennek a jegyzetnek a kereteit, s csak néhány fontos képviselőjükéről teszünk említést.

I. csoport: Metántermelő (metanogén) ősbaktériumok

A föld légkörében előforduló metán 8–9%-át ezek termelik. Közös sajátosságuk, hogy szén-dioxid (egyres fajok szén-monoxid vagy hangyasav) metánná történő redukálásával nyernek energiát, elektrononorként hidrogént használva. Metabolizmusukhoz számos olyan kofaktorral rendelkeznek, amelyek más baktériumokban nem fordulnak elő. Ilyenek a szén-dioxid metánná redukálása során a C1 carrier methanopterin, methanofuran és CoM, a hidrogén carrier faktor 420 és a faktor 430. Gram-festés és morfológia alapján heterogén csoport. Szerves anyagokban gazdag anaerob környezetben (mocsarak, tavak üledéke, kérődző állatok bendője) élnek. Szennyvíztisztító üzemekben energiaforrásként szolgáló metángáztermelésre használják őket.

A *Methanobacterium* nemzetségbe pálcikaalakú, endospórát nem képező, nem mozgékony, zömmel mezofil, anaerob fajok tartoznak. Néhány fajuk (*M. ruminantium*) fontos tagja a kérődzők bendőflórájának. Sejtfaluk pszeudomurein, általában G+ festődésűek.

Ugyancsak fontos tagja a kérődzők bendőflórájának a *Methanobrevibacterium* nemzetségbe tartozó *M. ruminantium*.

A *Methanococcus*ok sós mocsarakban, tengeri környezetben élnek, sejtfaluk fehérjékből épül fel, sejtjeik poláris flagellumokkal mozognak. G- festődésűek.

A *Methanospirillum* fajoknak spirális vagy görbült pálcika alakja van. Igen mozgékony sejtjeik fala fehérjékből épül fel. G- festődésűek. Főleg csatornaiszapból izolálhatók.

A *Methanosarcina* kokkus alakú sejtjei csomagokba rendeződnek. Szennyvíziszapban és a bendőben is előfordulnak. G+ festődésű sejtjeik heteropoliszaharidból és fehérjékből álló sejtfallal rendelkeznek. Hidrogén és hangyasav mellett metanolt, metilamint és acetátot is hasznosítanak. A légköri oxigén megkötésére is képesek.

A *Methanotrix* és *Methanobolus* fajok sejtjei hosszú láncokat alkotnak. Szénforrásként acetátot is hasznosítanak. Tartalék tápanyagként polifoszfátot és glikogént halmoznak fel.

A *Methanoplanaceae* család tagjai peritrich ostorral mozgó, széles, lapos sejttekkel rendelkeznek. Egyes fajaik szén-dioxidból nem, csak metanoból képesek metánt termelni.

II. csoport: Szulfátredukáló ősbaktériumok

Egyetlen nemzetségük ismeretes, az *Archaeoglobus*. Gram-negatív festődésű, sejt-faluk glükoprotein-egységekből épül fel. Elektrononorként hidrogént, tejsavat, hangyasavat, glükózt is képesek hasznosítani. Elektronakceptorként szulfát, szulfid, tioszulfát szolgálhat, de elemi kén nem.

III. csoport: Fokozottan sótüdő (halofil) ősbaktériumok

Nagy sókoncentrációjú tavakban, holt tengerekben fordulnak elő. Növekedésükhöz legalább 2,5 M (15%) NaCl-koncentrációt igényelnek, de az optimális sókoncentráció 3,5–5 M (20–30%). Ugyancsak magas (0,025 M) a magnéziumigényük. Az intracelluláris sókoncentráció hasonló az extracellulárishoz, de elsősorban KCl-t tartalmaznak. Biokémiai aktivitásaik (enzimek, fehérjeszintézis) ugyancsak magas sókoncentrációt igényelnek. Jellegzetes tulajdonságuk a vörös színük, amelyet a membránjukban lévő karotenoidoknak köszönhetnek. Ezek a pigmentek védik a sejteket természetes élőhelyükön a nagy intenzitású fénytől. Bakteriorodopszint tartalmaznak membránjukban, amely fény hatására protonpumpaként működik, s a kialakuló protongradiens ATP-szintézisre használható. Aerobok, vagy fakultatív anaerobok. Általában kemoorganotrofok, s legjobban pepton tartalmú táptalajon nőnek, mivel aminosavak a legjobb szén- és energiaforrásaik.

Jellegzetes képviselőik a G– festődésű, mozgásra képtelen *Halococcus* és az ugyancsak G–, poláris flagellumokkal mozgó *Halobacterium* fajok.

Ugyancsak magas sókoncentrációt és lúgos pH-tartományt igényelnek a *Natrobacterium* és *Natrococcus* fajok, melyek Afrika nagy sós tavaiban élnek.

IV. csoport: Sejtfallal nélküli ősbaktériumok

Evolúciós szempontból is igen érdekes mikroorganizmusok. A *Thermoplasma* nemzetség fajai tartoznak ide, melyek valószínűleg az első élőlények ma is élő kései leszármazottjai. Valódi sejtfallal nélküli, G– festődésű, fakultatív aerobok. A sejteiket határoló sejtmembrán 5–10 nm vastagságú, mannóz₄-glikóz-glicerín diéter) tartalmaz. Ez a két vegyület együtt valószínűleg egy poliszaharid réteget hoz létre a sejtek felszínén, s ez rigiditást kölcsönöz nekik. Obligát termoacidofilek, optimális növekedési feltételeik pH = 1–2, 55 °C. Semleges pH-n sejteik feloldódnak. Növekedésükhöz speciális növekedési faktort, egy az élesztőkivonatban megtalálható oligopeptidet igényelnek. Típus-törzsük a *T. acidophilum*, mely ostorral mozog. Genommérete a legkisebb (8×10^8 – 10^9 Dalton) valamennyi önálló életre képes sejt között. Szénbányák meddőhányóiból izolálható, természetes élőhelyük feltehetőleg a felszínhez közeli, átlevetgőzt szénréteg.

V. csoport: Erősen hőtüdő (termofil) ősbaktériumok

Az ide tartozó fajok közös sajátossága az extrém hőtürésük. Hőmérsékleti optimumuk 70–105 °C. Sós kéngőzös hőforrásokban élnek.

A *Thermococcus* és *Pyrococcus* nemzetségbe tartozó fajok a tenger alatti kénkiválás környékén élnek, G–, szigorúan anaerob élőlények. Mixotrofok. Kén és hidrogén hasznosítására képes litotrofok, de szerves szubsztrátok fogyasztására is képesek.

A *Thermoproteus* fajok hosszú (100 μm), vékony sejtei (0,5 μm) 90 °C-on élnek, s sejtfallukat kívülről SDS-tűrő glikoprotein réteg alkotja. Mozgásképtelen, kemolitotrof élőlények, hidrogént és elemi ként használnak energiaforrásként, széndioxidot pedig szénforrásként.

A *Desulfurococcaceae* családba tartozó *Desulfurococcus*, *Staphylothermus* fajok flexibilis sejtfallal rendelkező kokkusok, némelyek ostorral mozognak. Anaerobok, fermentáció során szénforrásként fehérjék, peptidok szolgálnak. Kemoorganotrof energianyerésük során hidrogént és elemi ként használnak.

A *Sulfolobus* fajok litotrof és organotrof táplálkozásra egyaránt képesek. Fakultatív vagy obligát anaerobok. Extrém termoacidofilek. Litotrof körülmények között kénhidrogént, ként, szulfidokat szulfáttá oxidálnak. Organotrof energianyerésük során cukrokat, aminosavakat egyaránt hasznosítanak. Savas kéngőzös hőforrásokban élnek.

MARÁZ ANNA

**5. EUKARIÓTA
MIKROORGANIZMUSOK**



5.1. Az eukarióta sejtek felépítése és működése

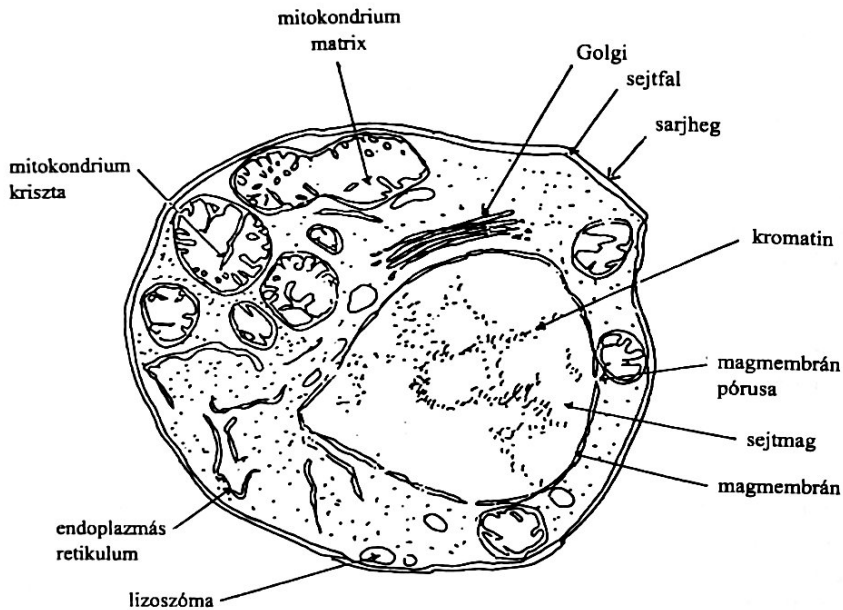
Az eukarióta élőlények döntő többségét a mikroorganizmusok közé tartozó **gombák, algák és protozoonok**, valamint a szövetes felépítést mutató **növények és állatok** alkotják. Sejtfelépítésük és működésük számos olyan közös tulajdonsággal jellemezhető, ami sokféleségük és számos egyedi tulajdonságuk ellenére is közös bennük. Ezt összefoglalóan az **eukarióta sejtípusnak** nevezzük, amely a prokariótákhoz képest nagyobb, összetettebb és fejlettebb. A sejtet egy összefüggő **membránrendszer** hálózza be, amely a citoplazmától szerkezetileg és működésileg elhatárolja a **sejtmagot** és a **sejtszervecskéket**, köztük a **mitokondriumot** és a **kloroplasztiszt**. Jellemző sejtalkotó a mikrofilamentumokból álló sejtíváz (cito-szkeleton). A sejtmagban található örökítő anyag, a DNS, fehérjékhez kapcsolódva **kromoszómákká szerveződik**, amelyek az eukarióták jellemző sejtosztódása, a **mitózis** során egyenletesen oszlanak meg az anyasejt és a leánysejt között. Csak az eukariótáknál fordul elő az **ivaros szaporodás**, amelynek kulcsfolyamata a **meiózis**. A meiotikus sejtosztódás kromoszómaszám-felezéssel jár, így a diploid testi (szomatikus) sejtekből haploid utódok (többnyire ivarsejtek) keletkeznek.

A citoplazmát behálózó membránrendszer kialakulása a sejt evolúciós fejlődése során bekövetkező sejtméret-növekedésnek szükségszerű következménye volt. A sejtek külső plazma membránja az evolúciós fejlődés alsó lépcsőfokát képviselő prokarióta sejteknél még képes ellátni alapvető feladatát, az anyagcsere és a növekedés sebességét meghatározó anyagfelvételhez és leadáshoz megfelelő nagyságú sejtfelszín biztosítását. A sejtméret növekedésével azonban a sejtfelszín növekedése nem követte arányosan a sejtterfogat növekedését, ennek következtében pedig az anyagcsere lelassult és a szaporodási sebesség lecsökkent. Ennek ellensúlyozásaképpen a citoplazma-membrán egyre mélyebben betüremkedett a sejt belsejébe, ezáltal egyrészt megnőtt a rendelkezésre álló membránfelület, másrészt pedig lecsökkent a sejt belsejéből a membránfelületig vezető út hossza. Mindkettő előnyösen megnövelte az anyagcsere-folyamatok sebességét, a sejtet behálózó membránrendszer pedig még specializálódott is, mivel egyes részei egymástól eltérő működés szolgálatába álltak. Így olyan belső terek (kompartmentek) alakultak ki, amelyek elhatárolták egymástól a különböző környezetet igénylő metabolikus folyamatokat. Így azok a folyamatok, amelyek inkompatibilisek (összeférhetetlenek) egymással, egyidejűleg is végbemehetnek ezekben az egymástól elhatárolt belső terekben. További fejlődést jelentett a mitokondrium és a kloroplasztisz prokarióta őseinek bekebelezése, amelyek az így kialakult eukarióta sejtekben a fotoszintézis és a légzés sejt szervei.

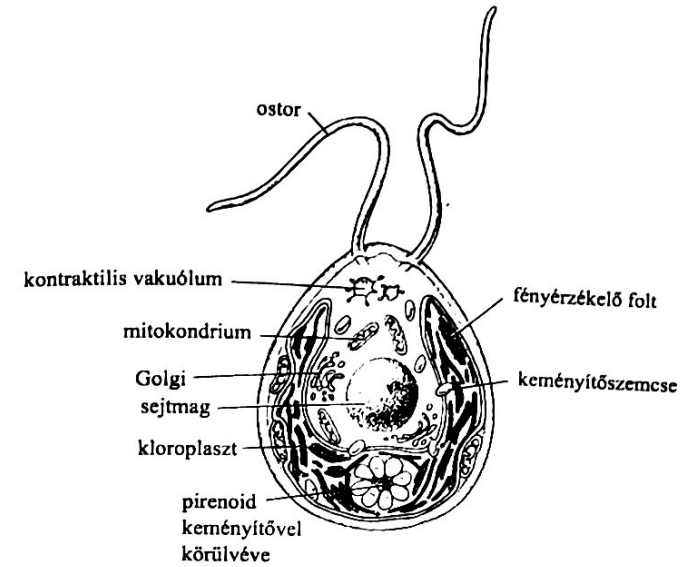
Az eukarióta élőlények sokféleségük ellenére sejt szinten közösen jellemezhetőek az ún. eukarióta sejtmodellel. Ilyen sejtmodellel a valóságban nehéz találkozni, mert a közös bélyegeket az egyes élőlények, sőt esetenként még ezek különböző sejtjei

is eltérő morfológiájú struktúrákban jelentik meg. Ugyanakkor legalább akkora hangsúlyt kell fektetni az eukariótákon belüli csoportok (rendszerintani egységek) közötti jellemző különbségekre, mint az azonosságokra. **Minél fejlettebb egy eukarióta szervezet, annál komplexebb, összetettebb sejtjeinek szerkezete és működése is.** A szövetes testfelépítést mutató növényeknél és állatoknál a szöveti sejtek differenciálódása miatt ez a kép pedig még összetettebb lesz.

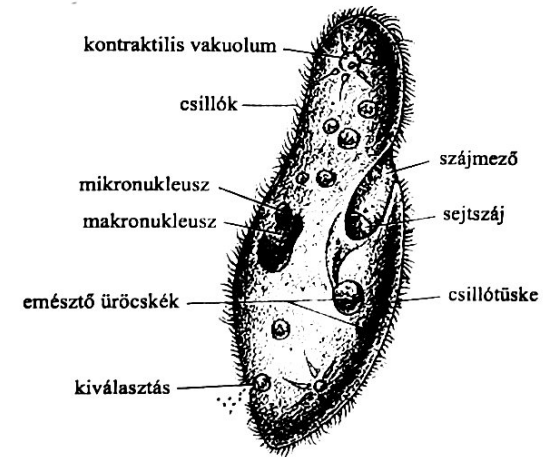
Az egysejtű eukarióta mikroorganizmusok, mint a legősibb ilyen szervezetek, a legegyszerűbb szerveződési szinten, ugyanakkor teljességében és szemléletesen testesítik meg az eukarióta sejtípust. Közülük is a gombák közé tartozó pék-élesztőt, a *Saccharomyces cerevisiae*-t („az élesztőt”) évtizedek óta az egyik legfontosabb eukarióta sejtmodellnek tekintik, amelynek jelentősége az utóbbi években a beható molekuláris szintű tanulmányozás következtében még tovább nőtt (5.1. ábra). Az algák között a *Chlamydomonas reinhardtii* (5.2. ábra), a protozoonoknál pedig a *Paramecium caudatum* (5.3. ábra) hasonló sejtmodell szerepet tölt be.



5.1. ábra: A *Saccharomyces cerevisiae* élesztőgomba elektronmikroszkópos képe



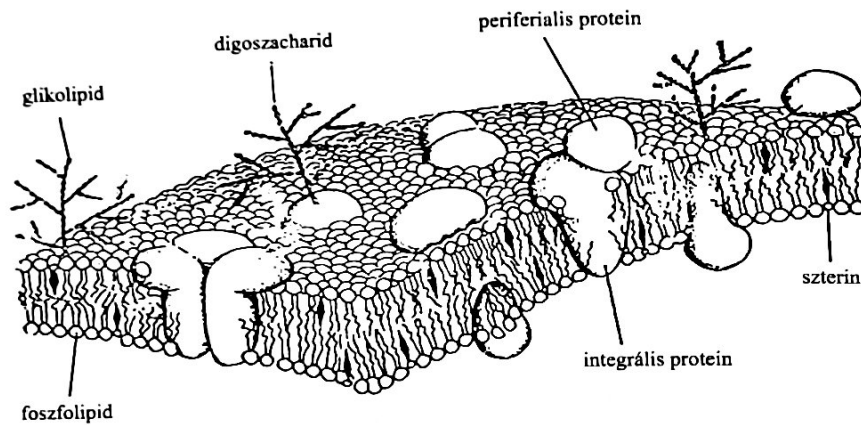
5.2. ábra: A *Chlamydomonas reinhardtii* zöldalga sejt ultrastruktúrája



5.3. ábra: A *Paramecium caudatum* protozoon sejtjének ultrastruktúrája

5.1.1. A citoplazma-membrán

Az eukarióta sejt citoplazmáját körülvevő külső membrán szerkezetileg csaknem teljesen megegyezik a baktériumok plazmamembránjával, míg működésére jellemző, hogy feladata a baktériumokhoz képest megváltozott. Transzport- és jelfelfogó szerepe megmaradt, sőt továbbfejlődött, míg a légzéssel (terminális oxidációval) és energiatermeléssel összefüggő funkciókat a mitokondrium belső membránja vette át. A fotoszintetizáló eukarióta élőlényeknél a kloroplasztisz összetett membrán rendszere a fotoszintézis szolgálatában áll, amit prokariótáknál a plazmamembrán erre a célra specializálódott „szigetei” látnak el (5.4. ábra).



5.4. ábra: Az eukarióta sejtcitoplazma membránjának jellemző felépítése

A membrán szerkezetére jellemző, hogy a **bimolekuláris foszfolipid** réteg és a felületéhez kapcsolódó, mélyebben belemerülő vagy a rajta áthatoló **globuláris fehérjemolekulák** a prokariótáknál már megismert **folyékony mozaik membránt** hozzák létre. A foszfolipidek nagyobbik hányadát foszfatidil-kolin és foszfatidil-etanolamin alkotja, csak kisebb arányban fordul elő foszfatidil-glicerin. Legfontosabb eukarióta membránsajátság, hogy a foszfolipid molekulák közé merevítő hatású **szterol** molekulák épültek be, amelyek fajtája jellemző az egyes eukarióta sejtekre. Az élesztőknél főként **ergoszterin** és **zimoszterin** található. Különösen nagy jelentőségük van a szteroloknak a protozoáknál, amelyeknél a sejtfal hiányában ezek a molekulák biztosítják a sejt meghatározott alakját és védelmét. Az

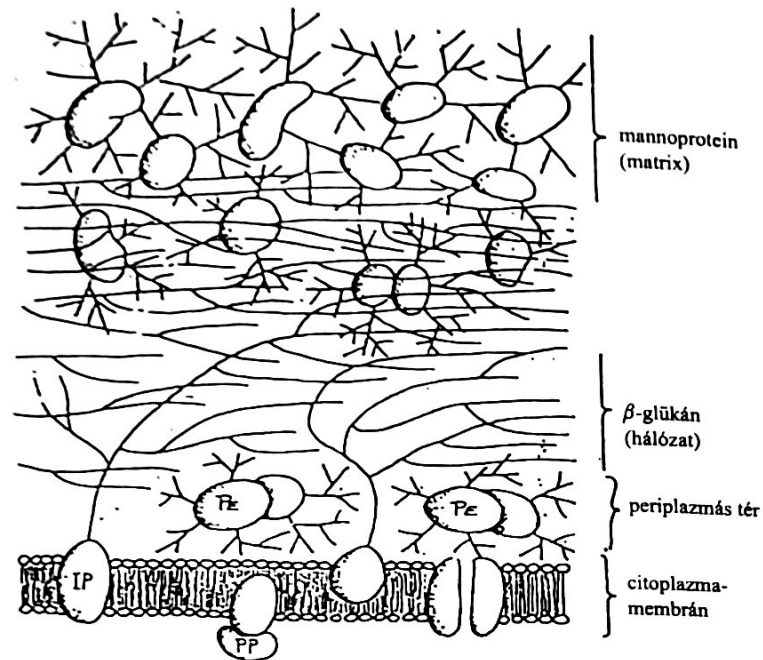
eukarióta sejteknél a foszfolipidek a membrán megfelelő **folyékonyságát (fluiditását)**, míg a szterolok a **merevségét** biztosítják. A membránt alkotó lipidek összetétele a környezeti feltételektől is erősen függő változást mutat. A megfelelő fluiditás biztosítása érdekében a bennük található zsírsavak telítetlen kötéseinek száma a hőmérséklet, a szaporodási ráta vagy az oxigén mennyiségének változásával összhangban változik.

A membrán pórusproteinjei, a permeázok és az ATP-áz a prokariótákhoz hasonló szerepet töltenek be a transzportfolyamatokban, bár molekuláris jellemzőikben eltérnek tőlük. Külső felszínükön specifikus, jelmolekulaként funkcionáló **glikolipidek** és **glikoproteinek** helyezkednek el. A magasabb evolúciós fejlettséget mutató állati sejteknél a külső felszínen elhelyezkedő glikoproteinek olyan sűrű hálózatot alkotnak, hogy egy összefüggő sejtburkot, **glikokalixot** hoznak létre. Ezekben a molekulákban a cukormaradékok fontos sejtfunkciók hordozói, mint amilyen például a felismerés, a sejtek tapadási (adhéziós) és összekapcsolódási (aggregációs) képessége, vagy a vírusok megkötése. Ugyancsak fontosak a sejtek immunogenitását meghatározó antigén szerkezet kialakításában is.

5.1.2. A sejtfal

A gombák és algák sejteit szerkezetileg jól definiált **sejtfal** borítja, amely meghatározza a sejt alakját és védi a környezeti hatásoktól. Míg a valódi baktériumok sejtfala a két fő típuson (Gram pozitív és Gram negatív) belül csak kevésbé különbözik, addig az eukarióta sejteknél nagyfokú változatosság tapasztalható. A **gombáknál** különböző nagymolekulájú poliszacharid fibrillumok hálózata alkotja a sejtfal belső rétegét, vázát, amely egy kevésbé merev, kisebb molekulájú poliszacharidokat és fehérjemolekulákat tartalmazó matrixba ágyazódik. A *S. cerevisiae* élesztőnél (5.5. ábra) a poliszacharid vázat **glükán** hálózat építi fel, amelyhez **foszfomanno-protein** külső réteg kapcsolódik kovalens kötéssel. Nagy szerepük van a sejtfal stabilizálásában a fehérjék diszulfid kötéseinek, ezek redukálásával (pl. merkaptotanol, ditiotreitoll) a sejtfal szerkezete fellazítható. Jellegzetes gomba sejtfalalkotó a **kitin**, bár néhány algánál is előfordul. A sejtfal összetételének vizsgálata, főként az ivaros folyamatnál nem rendelkező gombafajoknál nagy segítséget nyújt a rendszerezésben és az evolúciós kutatásban is.

Az **algák** sejtfala a gombákhoz hasonlóan csoportonként nagyfokú különbséget mutat. A növényekkel való evolúciós rokonságra utal a **cellulózból** felépülő fibrilláris hálózat, amelyhez **pektin** és különféle öt és hat szénatomos cukrok kapcsolódhatnak. Gyakran szervesetlen vegyületek (pl. CaCO_3 , szilikátok) lerakódása teszi teljesen merevvé sejtfalukat. A kovamoszatok (diatomák) szilikát tartalmú sejtfala oly nagy mértékben ellenáll a környezeti hatásoknak, hogy kialakulásuktól kezdődően a földtörténet valamennyi időszakából fellelhetők fosszilis formában.



5.5. ábra: A *Saccharomyces cerevisiae* élesztőgomba sejt falának ultrastruktúrája (PE: enzim protein, IP: integrális protein, PP: perifériális protein)

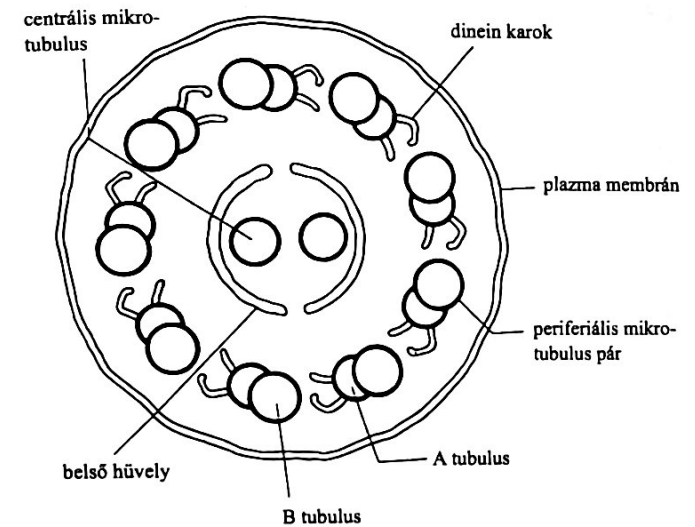
A sejt fal és a plazmamembrán között a néhány Å vastagságú *periplazmás tér* húzódik. Ebben a sejt fal szintéziséhez szükséges molekulák, enzimek, valamint az ún. sejt falhoz kötött extracelluláris enzimek (élesztőnél például invertáz, savas foszfátáz) találhatóak.

Néhány protozoonnál (pl. *Trypanosoma*) a citoplazma-membrán folytatásaként a sejt hossz tengelyén végighúzódnak, gyakran ostorban végződő vastagabb, merev membrán, a *pellikula* biztosítja a sejt mozgását.

5.1.3. Az eukarióta sejtek mozgásszervei

Az eukarióta mikroorganizmusok helyváltoztató mozgását szolgálják az algáknál, protozoáknál és néhány gomba ivarsejtjeinél megtalálható hosszabb **ostorok** (flagella, egyes számban flagellum), valamint a protozoák egyik csoportjára, a csillósokra (ciliata) jellemző rövidebb **csillók** (cilia, egyes számban cilium). A prokariótákhoz hasonlóan a csillók általában a teljes sejt felületet beborítják, csoport-

tokba vagy sorokba rendeződnek, és ritmikus, koordinált mozgásuk biztosítja a sejt helyváltoztatását. Az ostorok száma lényegesen kisebb mint a csillóké, és elhelyezkedésük is jellemző a sejtre: csak az egyik póluson található meg, vagy pedig mindkét pólusra kiterjednek. Míg a prokariótáknál az ostorok és a csillók szervesen összepültek a sejt membránnal és a sejt fallal, addig eukariótáknál a többi sejtalkotótól elkülönülő, valódi mozgásszerveknek tekinthetők. Felépítésükben hasonlóak: a citoplazma-membrán alatt elhelyezkedő *alapi testből* indulnak ki, amely a sejtől ki nyúló *fonálban* folytatódik. Keresztmetszeti képen jól látható, hogy a fonál belsejében szabályos elrendezésben (9+2) α - és β -tubulin fehérjékből felépülő csövecskék (mikrotubulosok) húzódnak. Egy-egy pár mikrotubulushoz *dinein* fehérjéből álló két-két kar kapcsolódik (5.6. ábra). Az így szerveződő *axonémát* membrán veszi körül, amely a citoplazma-membrán közvetlen folytatását jelenti. Az alapi testben a mikrotubulusok elrendeződése 9+3. A mozgáshoz szükséges energiát az ATP bontásából fedezik, amit a dinein ATP-áz aktivitása közvetít. A felszabaduló energia felhasználásával a mikrotubulusokat alkotó két-két mikrofilamentum elcsúszik egymáson, ami a flagellumra jellemző ostorszerű, illetve a csillóknál az evező csapásokra emlékeztető mozgást eredményezi.



5.6. ábra: Az eukarióta ostor és csilló keresztmetszete

5.1.4. A tok és a fimbría

Nagyon sok eukarióta mikroorganizmusra jellemző, hogy a sejtfalon kívül egy jól definiálható tok (kapszula) helyezkedik el. Ez az amorf, különféle homo- és heteropolimer, főként poliszacharid és glikoprotein molekulákból felépülő burok megvédi a sejtet a különböző fizikai, kémiai és biológiai stresszhatásokkal szemben. Különösen a természeti környezetben élő fajokra jellemző. A bazidiomiceta élesztőgombáknál (pl. a *Cryptococcus* és *Rhodotorula* fajok) gyakran megtalálható. A legfélelmetesebb humán patogén élesztőgomba, a *Cryptococcus neoformans* esetében a tok fontos virulenciátényező, megvédi a sejtet a szervezet immunrendszerével (fagociták, ellenanyagok) szemben.

Az utóbbi évtizedek kutatási eredményei bebizonyították, hogy a fimbríák (a sejtfal protein nyulványai) nemcsak a prokarióták jellemző sejtalkotók, hanem az eukarióta mikrobáknál is fontos és elterjedt sejtalfüggelékek. Élesztő- és fonalgombáknál kimutatták szerepüket a sejtek egymáshoz való kapcsolódásában (pl. szexuális agglutináció, aggregáció, flokkuláció), valamint a sejteknek a felülethez való tapadásában, adhéziójában. Patogén fajoknál számos esetben bebizonyították, hogy felelősek a gombasejtek különböző emberi vagy állati szöveti sejtekhez való specifikus kötődési képességéért.

5.1.5. A citoplazma és a citoskeleton

A citoplazmát alkotó **matrix** (citoszol) ultrastruktúráját tekintve viszonylag homogénnek, szinte szerkezet nélkülinek látszik. Nagy része víz, amelyben oldott makromolekulák, főként *fehérjék*, valamint kismolekulájú szerves és szervetlen vegyületek, *ionok* találhatóak. A sejt életműködéséhez alapvetően szükséges biokémiai folyamatok közül jó néhány (pl. glikolízis, aminosav és nukleotid bioszintézis) itt játszódik le. A víz egy része *szabad vízként* a citoplazma ozmózis nyomását határozza meg, más része pedig makromolekulákhoz, főként *fehérjék*hez kapcsolódva az ozmotikusan inaktív *kötött vagy hidratáló vizet* alkotja. A biokémiai folyamatok nagy valószínűséggel ebben a kötött vízben mennek végbe. A citoplazmát állandó ionerősség, pH és ozmózis nyomás jellemzi.

A citoszolban fény- vagy elektronmikroszkóppal jól megfigyelhető, membránnal határolt **mikrotestek** (peroxiszómák, glioxiszómák) és szabadon lévő, csupasz makromolekula **aggregátumok** (riboszómák, proteaszómák, lipidek) találhatóak. A *peroxiszómák* olyan enzimeket tartalmaznak, amelyek az anyagcsere-folyamatokban részt vevő különböző szubsztrátok hidrogénjét átvisszik az oxigénre. Ennek során azonban melléktermékként erősen toxikus hidrogén-peroxid is keletkezik, amit saját kataláz enzime azonnal lebont. Sok esetben található még bennük olyan oxidázok is, amelyek speciális szén- és nitrogénvegyületek lebontását végzik (pl. élesztőgombáknál a metanol, n-alkánok, hűgysav). A *glioxiszómák* a kataláz mellett

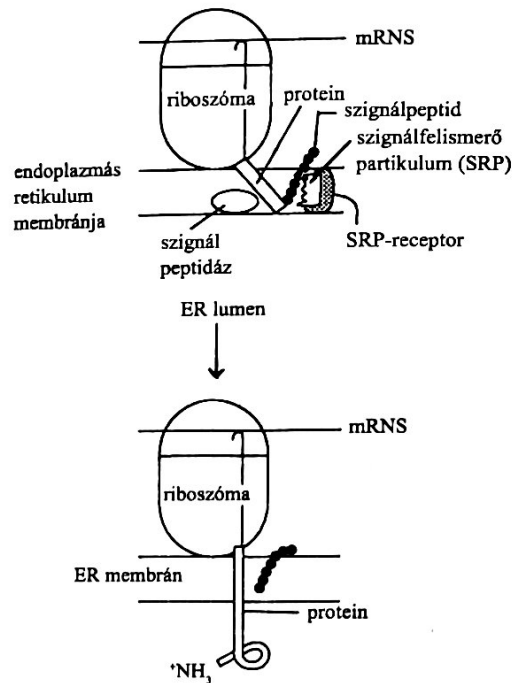
a glioxalát ciklus enzimjeit is tartalmazzák. Valószínű, hogy a peroxiszómák és a glioxiszómák különböző növekedési feltételek között átalakulhatnak egymásba. A *riboszómák* a prokariótákhoz hasonlóan kettő, de nagyobb (40S és 60S) alegység összeépülésével jönnek létre, amelynek mérete 80S. Mindkét alegységet az rRNS- és fehérjemolekulák alkotják. A kisebb, 40S alegységben egy 18S rRNS-molekula található, amely 33 polipeptiddel alkot komplex szerkezetet. A nagyobb, 60S alegységet háromféle rRNS-molekula építi fel (28S, 5,8S és 5S), amelyekhez 49 polipeptid molekula kapcsolódik. A *riboszómák* szabadon, vagy pedig mRNS-hez kapcsolódva, a protein szintézisben aktívan részt vevő polisómák formájában fordulnak elő. A szabadon lévő riboszómákon olyan fehérjék szintetizálódnak, amelyek közvetlenül a citoplazmába kerülnek. A *lipidcseppek* gömböcskéi valószínűleg a sejt számára tartalékolat membrán lipidekből állnak.

Valamennyi eukarióta sejt típusnál megtalálhatók a citoplazmát behálózó **mikrofilamentumok** és **mikrotubulusok**. A *mikrofilamentumok* párhuzamosan futó kontraktilis *aktin* fehérjemolekulák építik fel, elsősorban a sejt alakváltozásában és a sejtmozgásban játszanak szerepet (pl. amóba). A *mikrotubulusok* csövecskéi a csillóknál megismert kétféle (α és β) *tubulin* fehérjemolekula csavarvonal mentén történő összekapcsolódásával jönnek létre. Feladatuk a sejtalkotók, mint például a mitokondriumok sejt belüli mozgása, vagy a kromoszómák széthúzása a mitózis és a meiózis alkalmával, de a mikrofilamentumokhoz hasonlóan vagy azokkal együtt részt vesznek a sejtmozgásban is. A sejtekben a hosszanti mikrofilamentumokat és mikrotubulusokat keresztirányú *köztes mikrofilamentumok* kötik össze, így jön létre a sejt alakját meghatározó és mechanikai stabilitását biztosító sejtváz, a *citoskeleton*. A citoskeleton azonban nem statikus váz, hanem egy dinamikus, állandóan újjászerveződő struktúra. A sejt osztódása során a képződő septum (válaszfal) vagy a sarjsejt kidudorodásának környezetében például újjászerveződik, megerősödik, elősegítve ezáltal a sejtek poláris növekedést, majd szétválását.

5.1.6. A citoplazma belső membránrendszere

Mint a bevezetőben már említettük, az eukarióta sejtek egyik legfontosabb jellemzője a citoplazmát behálózó membránrendszer. A sejtek ultravékony metszetéről készült elektronmikrográf ezt a hálózatot csatornák, zsákszerű lapos üregek és gömbök keresztmetszeti képében vetíti elénk. A térbeli képet adó elektronmikroszkópos technikákkal azonban azt szemléltetik, hogy ezek valójában egy folytonos, egymással összefüggő vagy egymásba átalakuló membránrendszer elemei, amelyben az anyag transzport a külső sejtmembrántól a sejt belseje felé haladva egészen a magmembránig folytonosan nyomon követhető, és fordítva. Ettől az összefüggő hálózattól azonban teljesen elkülönülő membránrendszert alkotnak a *mitokondriumok* és a fotoszintetizáló eukarióta sejtekben megtalálható *kloroplastiszok*.

A citoplazma csatorarendszere – főként a növekedésben lévő vagy az intenzív fehérjeszintézist folytató sejtek esetében – az egész citoplazmára kiterjedő összefüggő hálózatot képez, amelyet **endoplazmás retikulumnak (ER-nek)** neveznek. A csövecskék átmérője 40–70 nm, nagy részüket a citoplazma felé eső felszínén riboszómák borítják. Ez az elektronmikroszkópos képen jól felismerhető szemcsézettséget okoz, emiatt a **granuláris** vagy **riboszómás endoplazmás retikulum (RER)** nevet kapta. A RER fő funkciója olyan fehérjék szintézise, amelyek vagy az endoplazmás retikulum membránjába épülnek be, vagy pedig azon áthaladva a tömlő belsejébe, a **lumenbe** kerülnek. Erre azonban csak azok a fehérjék képesek, amelyek szintézise egy rövid, többségében hidrofób aminosavat tartalmazó, ún. **szignál szekvenciával** indul. A szignálpeptid az ER külső felszínén található receptorhoz kapcsolódik, majd abba beoldódva átvezeti a fehérjét a lumenbe, ahol proteolízissal lehasad róla (5.7. ábra). A lumenben gyakran rövid nem-fehérje (pl. poliszacharid) részek kapcsolódnak a fehérjékhez (glikoziláció), ami kulcsfontosságú lehet aktiválásukban.



5.7. ábra: A riboszómán szintetizálódó fehérje transzlokációja az endoplazmás retikulum belsejébe a szignálpeptid segítségével

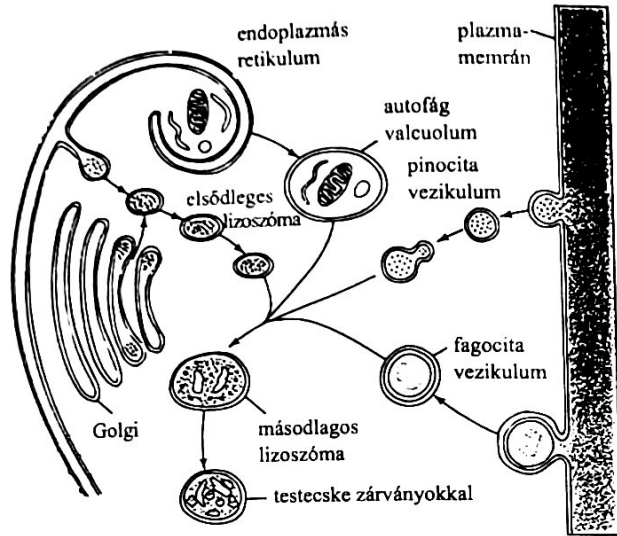
Az endoplazmatikus hálózat másik, kisebb része **sima** felszínű (**sima endoplazmás retikulum = SER**), amely nem tartalmaz riboszómákat. Hiányoznak róla a szignál peptidet megkötő receptorok is. Feladata a membránokat alkotó lipidek és szterolok szintézise a hozzájuk kötődő enzimek közreműködésével.

A legtöbb eukarióta sejt elektronmikroszkópos keresztmetszeti képen egymáshoz közeli, párhuzamos falú zsákocskák, a **ciszternák (diktioszómák)** figyelhetők meg, amelyek a **Golgi-rendszert** alkotják. A diktioszómák közül a fiatalabb, ún. „**cisz**” felszínük közvetlen folytatását jelentik az ER-nek, de már nem kapcsolódnak a felszínükhöz riboszómák. Ide kerül az ER lumenében szállított fehérjék egy része, amelyek itt további módosulásokon mehetnek át, mint például foszfátcsoport kapcsolódása (foszforilezés). A fehérjék apró membránhólyagokba csomagolva továbbjutnak az öregebb, „**transz**” felszínű diktioszómákba, amelyek ezek irányítását végzik. Gyakran megfigyelhető környezetükben a szélekről lefüződött, különböző enzimeket tartalmazó **membránhólyagok** (szekréciós vezikulumok) sokasága. A vezikulumok funkciója sokrétű, amelynek megfelelően **lizoszómákat**, **endoszómákat** és **vakuólumokat** szoktak megkülönböztetni. A **lizoszómák** a sejteket felépítő makromolekulák lebontására képes **hidroláz** enzimeket (proteázokat, glükánázokat, nukleázokat, lipázokat, savas foszfatázokat) tartalmaznak. Ezeknek egyrészt a sejtek **autolízisében**, másrészt pedig a növekedéssel, szaporodással összefüggően egyes sejtalkotók lebontásában van szerepe. Fonalgombáknál a növekvő hifacsúcsban **vezikulumok** tömege figyelhető meg, amelyek az új sejtfal szintézisében és a régi lebontásában részt vevő enzimeket szállítják ide.

A plazmamembrán különleges transzportfunkciója az **exocitózis** és az **endocitózis**. **Exocitózis** során a szekréciós vezikulumok membránja fuzionál a plazmamembránnal, így a bennük lévő anyagok (pl. a sejt falat felépítő komponensek és a szintéziséhez szükséges enzimek) a külső felszínre, a periplazmába kerülnek. Ezzel szemben **endocitózis** során a sejt falon átjutott anyagok a plazmamembrán betüremkedésével, majd pedig lefüződésével egy membránhólyag, az **endoszóma** belsejébe kerülnek, amely a későbbiekben a lizoszómákkal fuzionálva megemészti tartalmukat. Sokszor a sejt a saját citoplazmájából zár be egy kis részt az ún. **autofág vakuólumba**, amely szintén a lizoszómával történő fúzió révén lebontja azt. A lebontott tápanyag ezután a sejt citoplazmájába kikerülve, újra belép az anyagcserébe. Így a sejt a lizoszómák segítségével önmaga folyamatos megújítására is képes.

Gombáknál, főként az öregedő sejtekben, kisebb-nagyobb **vakuólumok** foglalják el a citoplazma egy részét, amelyek főként a sejt által szintetizált tartalék tápanyagok (pl. bázikus aminosavak) és kationok tárolására szolgálnak, de ide kerülnek a káros vagy felesleges anyagcseretermékek is. Számos nem specifikus proteolitikus enzim (endopeptidázok, aminopeptidázok, karboxipeptidázok) található bennük. Fénymikroszkóp alatt sokszor jól láthatók a belsejükben „táncoló”

polifoszfát rögzítésként, amelyek polianionos természetükből adódóan megkötik, illetve semlegesítik a kationokat. A lizoszómákra és a vakuólumokra általánosan jellemző, hogy pH-juk kissé vagy erősebben savas, ami a hidrolázok savas pH-igényével áll összefüggésben. Az 5.8. ábra a lizoszómák keletkezéséről és átalakulásáról ad áttekintést.



5.8. ábra: Az eukarióta sejtek lizoszómainak keletkezése és átalakulása

5.1.7. A sejtmag

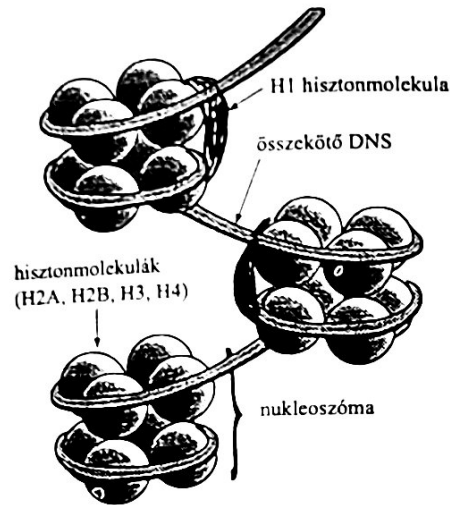
Az eukarióták egyik legfontosabb jellemzője, hogy örökítő anyaguk, a DNS egynél több kromoszómába szerveződve, egy kettősmembránnal körülvett sejtmagban helyezkedik el. A kettősmembrán azonban nem folytonos, hanem 50–100 nm átmérőjű, apró molekulákkal szegélyezett pórusok törnek át, amelyeknél a két membrán összefolyik. A membránok felépítésükben az endoplazmás retikulumra emlékeztetnek, sőt a külső membrán riboszómákat is tartalmaz, és közvetlenül átmegy az endoplazmás retikulumba. A póruson keresztül számos nagy molekulatömegű (akár 200 ezer daltont is elérő) molekula „zsilipel be” a sejtmagba, amelyek a DNS replikációjában és átírásában (DNS-, illetve RNS-polimerázok) vagy pedig az mRNA érésében és a riboszóma fehérjék felépítésében vesznek részt. De ezeken

a pórusokon keresztül jutnak ki a citoplazmába a fehérjeszintézishez szükséges tRNS- és mRNS-molekulák, valamint a riboszómák is. A riboszómák a sejtmagon belül többnyire jól elkülönülő magvacskában (nukleoluszban) jönnek létre. A magvacska nagy mennyiségben tartalmazza a riboszómális (r)DNS génekről átirított hosszú rRNS-molekulákat, amelyek később kisebb molekulákra hasadnak. Már a magvacskában hozzájuk kapcsolódnak a citoplazmában szintetizálódott riboszómális fehérjék is. Ezek a még nem teljesen érett riboszómák alkotják a többnyire sötét foltokat, élesztőnél pedig fénylő sapkának látszó magvacskát, amely a mitózis vagy meiózis alatt általában feloldódik, majd később újraszerveződik.

Az eukarióta kromoszómák speciális festéssel sötét, fonalas hálózat formájában tűnnek elő, amit kromatinnak neveznek. A kromatin egyes részei fellazult szerkezetet öltenek, ami a nagy transzkripció aktivitásukkal kapcsolatos. Ezt eukromatinnak hívják, míg az átírás szempontjából pihenő részek a heterokromatint alkotják. Ezek elektronmikroszkópos felvételeken sötétebb, szorosabban kapcsolódó kromoszómarészeket tartalmaznak. A kromatinban a DNS-molekulához ötféle bázikus fehérjemolekula kapcsolódik, amelyek az eukarióta élőlények legkonzervatívabb fehérjéi. A H2a, H2b, H3 és H4 hisztonmolekulákból 2–2 darab összekapcsolódva a hisztonmagot alkotja, amelyek egyenletesen, jellemző távolságokban hozzákapcsolódnak a DNS-szállhoz és viszonylag szoros kémiai kötés alakul ki a DNS-molekula foszfát-, és a hisztonfehérje-bázikus aminosavainak (lizin és arginin) szabad aminos csoportjai között. A DNS a hisztonmag köré feltekeredve a nukleoszómát hozza létre, amelyet legszembetűnőbben egy gyöngyfűzérhez lehet hasonlítani. A kevésbé konzervatív H1 hiszton segítségével a gyöngyfűzér szerkezet tovább tömörödik (5.9. ábra). A mitózis és meiózis megindulása a kromatin szerkezet erős tömörülésével (kondenzációjával) kezdődik, aminek eredménye a legtöbb élőlénynél a már fénymikroszkóppal is jól felismerhető kromoszómák kialakulása lesz.

A kromoszómaszám általában a fajra jellemző tulajdonság. A haploid (többnyire ivar-) sejtekben a különböző kromoszómákból mindig csak egy (1n), míg a szomatikus (testi) sejtekben kettő található, így ezek diploidok (2n). Az eukarióta mikroorganizmusoknál azonban a haploid (1n) sejtek nemcsak ivarsejtek lehetnek, hanem szomatikus, azaz vegetatív szaporodásra képes sejtek is. A gombáknál számos példát találunk erre mind az élesztőgombák, mind pedig a fonalgombák körében.

A kromoszómák különböző bázissorrendű (szekvenciájú) lineáris DNS-molekulákat tartalmaznak, amelyek összességükben a nukleáris genomot alkotják. A genom-méret szintén jellemzője az eukarióta élőlényeknek és sokkal jobban változik, mint a prokarióták körében. A *S. cerevisiae* haploid élesztőtörzsei csak mintegy háromszor több DNS-t tartalmaznak sejtenként, mint az *E. coli*, ez pedig ráadásul még 16 kromoszóma között oszlik meg. A fejlettebb eukariótákban a genom méret nagyságrendekkel is több ennél, ami azonban nem jelenti a gének számának arányos



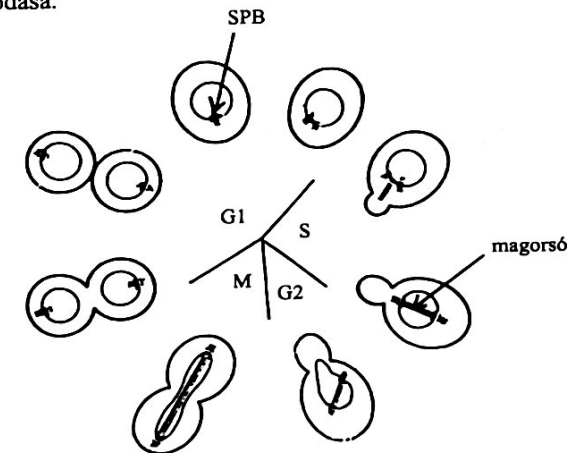
5.9. ábra: A nukleosóma szerveződése az eukarióta kromoszómában a hisztonok segítségével

növekedését. Az evolúciós fejlődés velejárója volt a genomméret növekedése, ami a génkifejeződés finomabb szabályozását tette lehetővé.

Szerkezetiileg a kromoszómán két kart lehet megkülönböztetni, amelyeket egy befűződés, a centromeron kapcsol össze. A centromeron gombáknál csak funkcionálisan különül el a kromoszómán, nem kapcsolódnak hozzá fehérjék, mint a növények vagy állatok kinetochorja esetében. Fontos szerepe van a kromoszómák mozgásában a sejtosztódások során, ide kapcsolódnak ugyanis a mikrofilamentumokból álló húzófonalak. Ugyancsak kitüntetett szerepük van a kromoszómavégeknek (telomer szekvenciák), amelyek biztosítják a DNS-replikáció teljes befejeződését az ún. lemaradó DNS-szálon is egy érdekes enzim, a telomeráz segítségével. Kutatások bizonyítják, hogy a magasabbrendű eukarióták esetében a sejtpusztulás egyik oka lehet a telomer szekvenciák rövidülése, ami a telomeráz enzim aktivitásának csökkenésével hozható összefüggésbe.

Az eukarióta élőlények szaporodásuk során megduplázzák örökítő anyagukat, majd pedig a magosztódás során egyenletesen oszlanak meg a kromoszómák az anyasejt és a leánysejt között. A sejtosztódásnak ezt a formáját mitózissnak hívják, amely folyamatosan ismétlődik a sejtciklusok során. A mitózisos sejtciklus (röviden $cdc=cell\ division\ cycle$) az eukarióta élőlényeknél ugyancsak sok közös vonást mutat. Az irányító gének és szabályozásuk, valamint a közreműködő fehérjemolekulák konzervatívizmusa tükröződik abban, hogy számos sejtburjánzást okozó emlős gént (ún. onkogént) megtaláltak élesztőben is.

A sejtciklus felosztható a mitózist magába foglaló M fázisra, valamint a két mitózis közötti interfázisra. Az interfázis tölti ki a sejtciklus idejének legnagyobb részét, ez alatt megy végbe a sejtek növekedése, valamint a DNS megkettőződése. Az interfázis három további periódusra oszlik, amelynek a mitózist követő első szakasza a G1 (első nyugalmi) fázis. Amennyiben elegendő tápanyag áll rendelkezésre és a környezeti feltételek is megfelelőek, a sejtek ilyenkor aktív RNS- és fehérjeszintézist végeznek. Ennek következménye lesz a sejt térfogatának és tömegének növekedése, ami megindítja a kromoszómális DNS replikációját, az S fázist. A kromoszómák replikációja egymással szinkron, viszonylag rövid idő alatt megy végbe. Ezt követi egy második nyugalmi szakasz, a G2 fázis, melynek legfontosabb feladata a sejt felkészítése a mitózisra. Mint már korábban említettük, a mitózis kezdetén kialakul a kondenzálódott kromoszómaszerkezet, egy-egy kromoszóma azonban a DNS replikációja következtében két-két azonos kromatidát tartalmaz. A mitózis az eukarióta mikroorganizmusoknál kissé eltérhet attól, amit a magasabbrendűeknél megfigyeltek. A gombák többségénél és néhány protozoánál a maghártya nem oldódik fel, így az osztódási orsó a sejtmag belsejében jön létre, ahol a mikrofilamentumok összekötik a maghártyához kapcsolódó és a centriolumok szerepét betöltő két magorsó testet. A mitózis megtörténte után az anyasejt és leánysejt elválik egymástól, ez azonban nem szükségszerű, az újabb G1 fázis megkezdődhet e nélkül is. Az 5.10 ábra a *S. cerevisiae* sejtciklusának jellemző eseményeit mutatja be, melynek során megfigyelhető a magorsó kialakulása, a sejtmag, majd pedig a sejtek kettéosztódása.



5.10. ábra: A *Saccharomyces cerevisiae* élesztőgomba mitózisos sejtciklusa. G1: első nyugalmi fázis; S: DNS-szintézis fázisa; G2: második nyugalmi fázis; M: mitózis; SPB: magorsó test

Amennyiben a tápanyag elfogy vagy az egyéb életfeltételek kedvezőtlené válnak, a sejtek a G1 fázisban állnak meg. Ugyanacsak ebben a fázisban maradnak a már nem osztódó, pl. állandósult szöveti sejtek is.

A sejtciklus hossza (időtartama) optimális szaporodási feltételek esetében jellemző az adott fajra, sőt magára a törzsrre is. Ezt generációs időnek hívjuk, ami az eukarióták többségénél mindig hosszabb, mint a baktériumoknál.

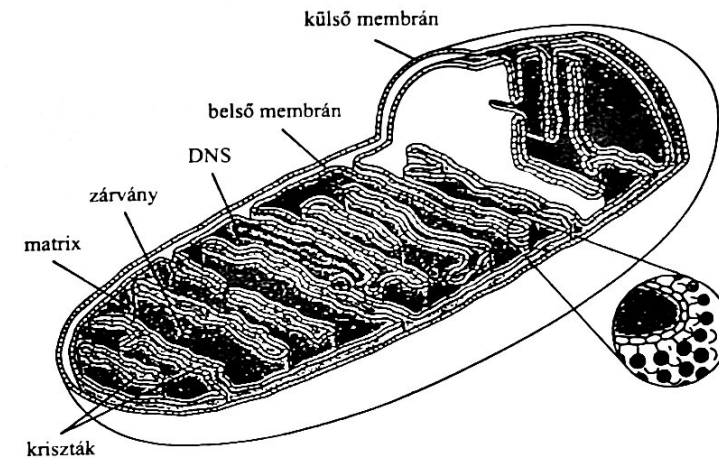
Az eukarióta élőlények többségénél a diploid sejtekből egy kromoszóma-számfelező osztódás, a *meiózis* révén haploid sejtek jönnek létre. Ez a folyamat az ivaros szaporodáshoz kapcsolódik, melynek során a keletkezett haploid sejtek, a *gaméták* (ivarsejtek) egymással fuzionálva újra létrehozzák a diploid sejtet. A sejt-füzió azonban a mikroorganizmusoknál nem mindig megy végbe azonnal, számos gombafaj képes haploid sejtek formájában is mitózással osztódni.

A *meiózis* folyamatai lényegesen eltérnek a mitózistól, főként ami az első osztódási stádiumot illeti. A *meiózist* is megelőzi a DNS-replikáció, így a *meiózis* kezdetén a diploid sejt minden kromoszómából négy kromatidát tartalmaz, azaz valójában tetraploid (4n). Ahhoz, hogy az utódsejtekben haploid kromoszómaszám jöjjön létre, a kromatidáknak egymást követően kétszer kell szétválniuk, a *meiózis I-ben* és a *meiózis II-ben*. Ezt azonban megelőzi az első meiotikus osztódás *profázisában* a szalagszerű kromoszómaszerkezet kialakulása, majd szoros kapcsolódásuk, a *szinapszis*. Ezt követi a kromatidák kondenzálódása, majd a szinaptikus kromoszómáknak a sejt vagy sejtmag középsíkjába való rendeződése. Ezen folyamatok közben a homológ kromatidák között nagy gyakoriságú átkereszteződés (crossing over) játszódik le, a homológ kromoszómák génei kicserélődnek, új allél kombinációk keletkeznek. Az első meiotikus osztódást általában közvetlenül követi a második, amely már jobban hasonlít a mitózishoz. A homológ kromatidák ismét szétválnak, aminek eredményeként 4 haploid sejt keletkezik. Gyakran előfordul, hogy csak egy haploid sejt marad életben, a többi elpusztul, de mikroorganizmusoknál általában mind a négy haploid sejt életképes, hacsak nem tartalmaznak az adott feltételek közötti növekedést megghiúsító mutáns géneket. *Meiózissal* jön létre az élesztőgombák 4 meiospórát (tetradot) tartalmazó aszkusza, vagy a fonalas tömlősgombák 4- 8- 16- 32 stb. meiospórát tartalmazó aszkusza (tömlője). A négyenél több haploid utódsejt keletkezésének az a magyarázata, hogy a *meiózist* követően az ivarsejtek még mitózással is osztódnak.

5.1.8. A mitokondrium

A mitokondrium csaknem valamennyi eukarióta sejt nélkülözhetetlen sejt szerve. Szokták a sejt „erőműveként” is emlegetni. A sejt korától, fiziológiai vagy metabolikus aktivitásától függően száma változó. A fiatal, aktív anyagcserét folytató sejtek általában csak egy vagy néhány, míg az öreg (stacioner fázisban lévő) vagy éhező sejtek nagyszámú, sokszor több száz vagy ezer mitokondriumot tartalmaznak.

A mitokondrium nem mozdulatlan, statikus szerkezet, hanem állandó mozgásban van, folyamatos alakváltozás figyelhető meg nála. A sejt növekedése során térfogata megnő, majd osztódáskor a mitokondrium is kettéosztódik. *Kettős membrán* veszi körül, amelyek felépítésükben és működésükben is különböznek. A külső membrán sima, az eukariótákra jellemző szteroidokat tartalmaz, míg a belső a baktériumok plazmamembránjára emlékeztet, és betüremkedéseket, *krisztákat* alkot. A kriszták a legtöbb eukarióta sejtél lemezes felépítésűek, míg egyes mikroorganizmusoknál ettől eltérő szerkezetet is felvehetnek (pl. csöves vagy korong alak). A két membrán között az *intermembrán tér*, a belső membránon belül pedig a *matrix* helyezkedik el (5.11.a. ábra).



5.11.a. ábra: A mitokondrium szerkezetének sematikus felépítése

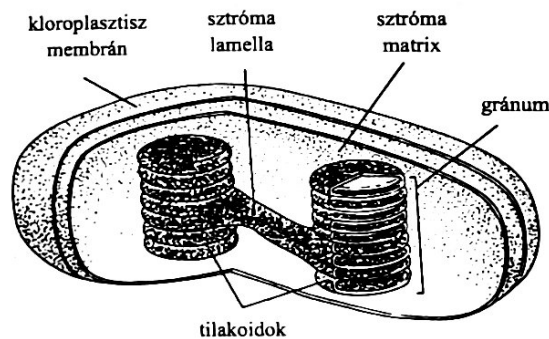
A külső membrán transzportszerepe erősen visszaszorult. A polimer molekulák (fehérjék, poliszacharidok, nukleinsavak) kivételével a citoplazma legtöbb szerves és szervetlen molekuláját átengedi, ennek következtében az intermembrán tér kis molekulái tükrözik a citoszol összetételét, fehérjei azonban jellemző enzimaktivitást képviselnek. Ezzel szemben a belső membrán sokrétű transzportfunkciót lát el. A terminális oxidációban részt vevő fehérjék és az elektron transzport, valamint az oxidatív foszforilezés komponensei helyezkednek itt el. Elektronmikroszkópos felvételeken jól láthatók a belső membrán belső felszínéhez kis nyelcskével illeszkedő fehérjegyömböcskék, amelyek a légzéshez kapcsolódóan az ATP szintézisét végzik, vagy pedig energia felszabadításához ATP-t bontanak. Működésük oligomicin antibiotikummal gátolható, ezért a plazmamembránban és a vakuólumban

található ATP-áztól megkülönböztetve oligomicinérzékeny ATP-áznak, másnéven F_1-F_0 partikulumnak hívják.

A *matrix*-ban oldott fehérjék, prokarióta típusú (70S) riboszómák és önálló fehérjeszintézisre alkalmas rendszer van, amihez a genetikai információt a mitokondrium saját DNS-e szolgáltatja. Ezek körkörös, sokkópiás DNS-molekulák (20–50 kópia/sejt), a mitokondriumok működéséhez szükséges fehérjéknek azonban csak kisebbik hányadát kódolják. Nagyobbik részük a citoplazmában szintetizálódik, majd a már megismert szignál peptidok közreműködésével jut át a mitokondrium-membránokon. A *matrix*-ban található enzimek segítségével különböző szerves vegyületek oxidatív lebontása folyik, melyek közül legjelentősebb a *citrátkörhöz* kapcsolódó lebontás és energianyeres. Ugyancsak itt folyik a zsírsavak b-oxidációja is.

5.1.9. A kloroplasztisz

A kloroplasztisz az algák és a magasabbrendű növények sejtiszerve, amelyben a fotoszintézis reakciói játszódnak le. Szerkezetét tekintve sok szempontból hasonlít a mitokondriumra, ezt is kettős membrán határolja el a citoplazmától. Annak ellenére, hogy alakjában és méretében nagy változatosság figyelhető meg, sok közös szerkezeti vonás is jellemzi. Alakja általában a banánhoz hasonló, mérete egy átlagos baktériumsejtnél felel meg. A belső membránlemezeket, ún. *tilakoidokat* alkotva betüremkedik a *sztróma*-ba, és a pénztekercshez hasonlóan egymásra épülő membránok a *gránumot* hozzák létre (5.11.b. ábra). A fotoszintézis fényszakaszának reakciói a tilakoid membránban játszódnak le, ahol a fényenergia megkötését végző *fotoszintetikus pigmentek* (különböző klorofill- és karotinmolekulák), valamint az ATP-, NADPH-szintézishez és az O_2 -termeléshez szükséges *enzimek* helyezkednek el.



5.11.b. ábra: A kloroplasztisz szerkezetének sematikus felépítése

A *sztróma* a helyszíne a fotoszintézis ún. sötét reakcióinak, melynek során a levegő CO_2 tartalmának fixálásával, a *Calvin ciklus* enzimeinek közreműködésével glükóz keletkezik.

A kloroplasztisz abban is hasonlít a mitokondriumhoz, hogy *sokkópiás saját DNS-e* és működőképes *fehérjeszintetizáló rendszere* van, valamint itt is ún. prokarióta típusú, 70S méretű riboszómák találhatók. Működéséhez és osztódásához azonban szüksége van azokra a fehérjékre is, amelyeket a sejtmag kódol és a citoplazma riboszómák segítségével szintetizálódnak.

Sok alga kloroplasztiszában található *pirenoid szemcsék*, amelyeket keményítővel vagy más poliszachariddal körülvett proteinmolekulák alkotnak. Valószínűleg ezek a poliszacharidok szintézisében vesznek részt.

5.2. Az eukarióta mikroorganizmusok jellemzése és főbb csoportjai

Az előző fejezetben megismerhettük az eukarióta mikroorganizmusok jellemző sejt szerkezetét, különös hangsúlyt fektetve arra, hogy a prokariótáktól való eltéréseket is érzékeltessük. Ebben a fejezetben bemutatjuk az eukarióta mikroorganizmusok rendszertani csoportjait, melynek során megismerjük változatos, színes világukat, valamint élőhelyeiket és szerepüket az élővilágban.

5.2.1. Az eukarióta mikroorganizmusok helye az élőlények rendszerében

A riboszómális RNS szekvenciaadatok alapján felállított evolúciós törzsfá egyértelműen azt mutatja, hogy az eukarióta élőlények közös (monofiletikus) eredetűek. A prokarióta-eukarióta közös őssejt az evolúció korai szakaszában két ágon fejlődött tovább, az egyik a (eu)baktériumok vonala, a másik pedig az ősbaktérium-eukarióta közös vonal volt. Utóbbiak fejlődése később szétvált, egyik ágon az ősbaktériumok alakultak ki és fejlődtek tovább, a másikon pedig egy hosszabb evolúciós időszak után az eukarióta élőlények jöttek létre. Ez arra utal, hogy az eukarióták a törzsfajlódást tekintve közelebb állnak az ősbaktériumokhoz, mint az eubaktériumokhoz.

Az eukarióták 18S RNS szekvenciaadatainak elemzése azt mutatja, hogy az eukarióták törzsfajlódása nem volt egyenletes, hanem egyes időszakokban felgyorsult. Az ősi eukarióták valószínűleg olyan egysejtű élőlények voltak, amelyek a prokariótáknál nagyobb sejtekből álltak és membránnal határolt sejtmagot tartalmaz-

tak, de sem mitokondrium, sem pedig kloroplasztisz nem volt bennük. Ilyen ősi típusú eukarióták csak obligát parazitaként maradtak fenn, mint például az emlősökben élősködő *Giardia* fajok, vagy pedig a *Microspora* csoportba tartozó rovarparaziták. A ma élő eukarióta élőlények többsége azt követően alakult ki, hogy az ősi eukarióta sejtek szimbiózisba léptek a mitokondrium és a kloroplasztisz őseit képviselő baktériumokkal. Ekkor az evolúció felgyorsult: az eukarióta mikroorganizmusok, majd pedig a szövetes élőlények (növények és állatok) gazdag világa alakult ki. Mind az eukarióta mikroorganizmusok, mind pedig a szövetes növények és állatok az élőlények legfejlettebb típusait képviselik.

A Whittaker-féle felosztás szerint az eukarióták az élőlények öt világa közül négyet foglalnak el, amelyekből kettőt a szövetes növények és állatok alkotnak, kettőt pedig a mikroorganizmusokat: a gombákat (fungi), valamint a protisztákat (algák és protozoa) foglalja magába. Az újabb felosztás szerint az algák és protozoonok önálló világot alkotnak.

Az rRNS-vizsgálatokon alapuló eukarióta törzsfá azt mutatja, hogy míg a gombák, növények és állatok viszonylag egységes csoportokat képeznek, a protiszták számos, sokszor erősen szétágazó vagy nagy evolúciós távolságban lévő csoportokból állnak. Ez az oka annak, hogy bizonyos élőlényeknek a gombákhoz való besorolása nem volt tartható, ugyanakkor azonban nem illenek a protozoonok közé sem (pl. az oospórás gombák és a nyálkagombák csoportjai). A probléma megoldásaként újabb rendszertani csoportokat hoztak létre ezekből, de várható, hogy a törzsféjlődéshez jobban alkalmazkodó rendszerezés hasonló változásokat okoz még a jövőben.

5.2.2. A gombák országa (Regnum: Fungi/Mycota)

A gombákkal a mikológia foglalkozik, amely a rendszerezésen, identifikáláson kívül kiterjed a gombák citológiájának, anyagcseréjének és genetikájának tanulmányozására is, valamint számos alkalmazott területet is magába foglal (pl. orvosi, növénykórtani, élelmiszer- és ipari mikológia). Egyre nyilvánvalóbbá válik az is, hogy ökológiai szempontból a gombáknak a baktériumokkal összevethető nagy jelentőségük van. Ezekkel, valamint más eukarióta mikroorganizmusokkal együtt részt vesznek a szerves anyagok lebontásában, átalakításában, a biodegradációs, mineralizációs folyamatokban.

A gombák alapvetően szárazföldi élőlények, bár néhány fajuk édesvízben és tengerben él. Többségük szaprofita életmódot folytat, azonban növény-, állat- vagy humánparazita fajok is előfordulnak közöttük. Több mint 5000 fajról ismert, hogy gazdaságilag jelentős természetű vagy vadon élő növényeket támad meg, hatalmas gazdasági károkat okozva ezáltal. Egyesek mikotoxin termelésükkel veszélyeztetik az állatok vagy az ember egészségét.

Számos légyszárú növény és fa esetében a gyökéren kialakuló gombaszövedék, a *mikorrhiza* jelentősen hozzájárul a felszívó felület kialakításához. Nedves talajokban megnöveli a tápanyagok, különösen a foszfor elérhetőségét a növény számára, míg száraz környezetben elősegíti a víz felvételét.

A gombák táplálkozásukat tekintve kivétel nélkül kemoorgano-heterotróf szervezetek. Sem fotoszintetikus, sem pedig kemolitotróf (kemoautotróf) energianyerésre nem képesek. A komplex, nagy molekulájú tápanyagokat extracelluláris enzimeik segítségével kisebb, vízben oldható molekulákra bontják le, amelyeket a sejtek felvesznek, majd tovább bontanak. Számukra a szerves anyagok egyaránt szolgálnak szén- és energiaforrásként, valamint elektronodonorként is. Bár a gombák morfológiai szempontból nagyon változatosak, anyagcsere-folyamataikban ez nem tükröződik. Mind katabolikus, mind pedig anabolikus folyamataikban az egyes csoportok között sok a közös vonás.

A gombák többsége *obligát aerob* szervezet, azonban számos olyan faj ismert közöttük, amely a környezet oxigén tartalmának csökkenése esetén áttér az alkoholos erjesztéssel történő energianyerésre (Pasteur effektus). Ezeket *fakultatív anaeroboknak* tekintjük, bár teljesen anaerob környezetben ezek a fajok sem képesek huzamosan szaporodni. Ennek oka arra vezethető vissza, hogy a fajok sem képesek huzamosan szaporodni. Ennek oka arra vezethető vissza, hogy a fajok sem képesek huzamosan szaporodni. Ennek oka arra vezethető vissza, hogy a fajok sem képesek huzamosan szaporodni. Ennek oka arra vezethető vissza, hogy a fajok sem képesek huzamosan szaporodni.

A légzésről az erjesztésre való áttérést nemcsak az oxigén csökkenése okozhatja, hanem a nagy erjeszhető cukortartalom is. Ez a jelenség régóta ismert, glükóz (katabolit) represszióknak vagy *Crabtree effektusnak* hívják. Különösen érzékenyek a glükóz represszióra a *Saccharomyces sensu stricto* csoportba tartozó fajok, amelyeknél már néhány tized % glükóz is represszálja a légzést. Ezek a fajok inkább tekinthetők *fakultatív aerob* szervezeteknek, mivel élőhelyeiken (nagy cukortartalmú gyümölcsök, gyümölcslevek, virágnektárok, fák nedvei) ritkán áll rendelkezésre huzamos ideig ilyen alacsony cukortartalom. Ezek az élesztők anyagcseréjükkel tökéletesen alkalmazkodtak az alkoholos erjesztéshez. Valószínű, hogy az egysejtű, sarjadzó sejtalak is az ehhez való jobb alkalmazkodás következtében alakult ki, illetve állandósult náluk.

Az ökológiai szerep mellett ki kell emelni a gombák óriási ipari jelentőségét is. Az élelmiszeriparhoz tartozó erjedésiparokban az élesztőgombák (elsősorban a *Saccharomyces* fajok) etanolos erjesztését használják ki, amelynek segítségével a tradicionális alkoholos italokat (sör, bor, pezsgő, égetett szeszek), valamint a kelesztett pékárukat állítják elő. A fonalgombák (elsősorban a penészgombák) számos olyan gyógyászatilag fontos szekunder metabolitot termelnek, amelyeket világszerte nagy mennyiségben gyártanak fermentációval (pl. antibiotikumok, vérzéscsillapítók,

hormonok). Ugyancsak gombák segítségével álltanak elő az iparban egyes szerves savakat (pl. citromsav, glükonsav), valamint számos enzimet (pl. glükoamiláz, pektináz, celluláz, proteázok, rennin, β -galaktozidáz, invertáz).

A gombák régóta kedvelt modellszervezetek az alap kutatásokban is. A baktériumokhoz hasonló könnyű tenyésztetőségük természetes és mesterséges táptalajokon, rövid generációs idejük, sokféle ivaros és ivartalan szaporodási formájuk, változatos sejtmorfológiájuk miatt a mikrobiológiában, biokémiában, genetikában és citológiában elterjedten alkalmazzák a gombákat.

A molekuláris biológia hatalmas fejlődését nagyban elősegítette a *S. cerevisiae* élesztőgombával kapcsolatos kutatási eredmények alkalmazása a magasabbrendű eukarióta szervezeteknél.

5.2.2.1. A gombák morfológiájának és életfolyamatainak főbb jellemzői

A gombák sejt- és telepmorfológiájukat tekintve a legváltozatosabb élőlénycsoportot képviselik. Megtalálhatók közöttük az egyszettű szervezetektől kezdve a sokszettű fonalas sejteken keresztül a szövetszerű sejtszerveződést megközelítő fejlettségű (kalapos) nagygombák. Ezek a sejtek a gombatestet, idegen szóval a *thallust* építik fel. Mind ivartalan (vegetatív), mind pedig ivaros (szexuális) szaporodásuk változatos sejt típusokat foglal magába, az egyes gombacsoportok morfológiailag és genetikailag jól jellemezhető életciklussal rendelkeznek. Rendszertani felosztásukban is kitüntetett szerepük van az ivartalan szaporító képletek vizsgálatának és az ivaros folyamatok jellemzőinek.

Sejtmorfológiai és gyakorlati szempontokat figyelembe véve a gombákat élesztő- és fonalgombákra osztják, ez azonban nem jelent rendszertani kategorizálást. A későbbiekben bemutatandó valamennyi rendszertani gombacsoportban megtalálható mindkét sejt típus. Az élesztőgombák azonban a jellegzetes sejtszerveződés mellett élettani és ökológiai szempontból is elkülönülő csoportot képviselnek, ezért indokolt őket külön fejezetben tárgyalni.

5.2.2.1.1. Élesztőgombák

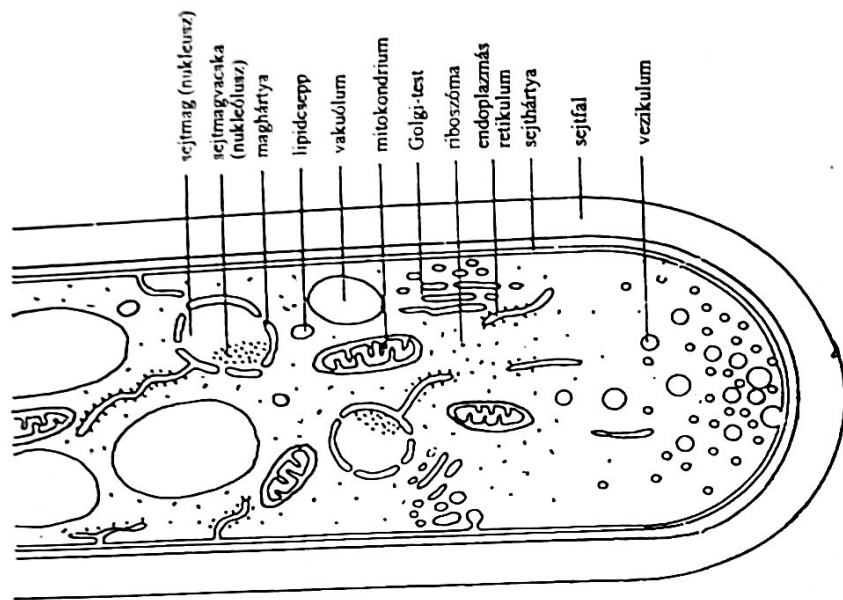
Az élesztőgombák jellegzetes egyszettű eukarióta szervezetek, a sejtek többnyire egy sejtmagot tartalmaznak. Vegetatív szaporodásuk (mitózis) általában sarjadással történik. Ennek során az anyasejten egy kidudorodás, a sarj jelenik meg, amely tovább növekszik, majd leválik. Helyét egy újonnan szintetizálódott, dugószerű sejt-falképződmény zárja le (5.1. ábra). A sarj leválásának helye elektronmikroszkópos felvételeken egy krátterszerű képződmenyként látható, amelyet *sarjhegnek* vagy *sarjadási ripacsnak* hívnak. A sarjsejtek elhelyezkedése a sejt felszínén általában fajra jellemző, de fajon belül is változhat a sejtek ploiditása szerint. Ha a sarjak a sejt egyik, vagy a két ellentétes pólusán jönnek létre *unipoláris*, illetve *bipoláris*, míg

ha a sejt felületén oldalirányban is megjelennek, *multipoláris* sarjadásról beszélünk. Előfordul, hogy a sarjsejtek nem válnak le az anyasejtről, hanem a mitózis befejezése után rögtön újabb sarjadásba kezdenek, ezáltal elágazó sejtsomók jönnek létre. Különösen tápanyagdús körülmények közötti, gyors szaporodásnál figyelhető ez meg (pl. sütőélesztő szaporítása fermentorban). Egyes bipolárisan sarjadzó fajoknál a sarjsejt leválásának helyén gallérszerű sejtmaradvány figyelhető meg, ezeknél a többszöri sarjadás következtében az anyasejt mikroszkóp alatt citrom alakot mutat (pl. *Kloeckera apiculata*). Az élesztősejtek alakja többnyire gömb, ovális vagy hengeres, de a sejtek meg is nyúlhatnak, ilyenkor mikroszkóp alatt a látómezőt sűrűn behálózó, fonalszerű, elágazó sejteket látunk. Ezeket álhifának (pszeudomicéliumnak) nevezzük, megkülönböztetve a fonalgombák sejtjeit felépítő valódi hifáktól. Álhifák esetében az egymáshoz kapcsolódó sejtek között a válaszfal teljes, míg valódi hifáknál a válaszfalon pórus(ok) található(k). Az álhifák fajra jellemző morfológiát mutatnak, ennek megfelelően különböző típusokba sorolhatók. Különösen gyakori az álhifaképzés a *Candida* nemzetségbe tartozó fajoknál, amelyek között számos humánpatogén faj is előfordul (pl. *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*). A fonalas és sarjadzó sejt alakot váltogatni képes gombákat dimorf gombáknak nevezik. A sejtalak megváltozását általában a környezet O_2 - és/vagy CO_2 -, valamint hasznosítható szénhidrátartalma váltja ki, de befolyásolhatják egyéb tápanyag-ellátottsági és környezeti tényezők is. A parazita életmódot folytató gombákra különösen jellemző az élesztő és a fonalas alak váltogatása. Állat/humán patogén gombáknál a szervezetben általában a sarjadzó sejtalak, míg szervezeten kívül a fonalas forma figyelhető meg (pl. *Candida albicans*). A növénypatogén gombákra ennek éppen a fordítottja jellemző: a gazdaszervezetben fonalasként nő a gomba, míg elhalt szervesanyagot tartalmazó szubsztrátumon (szaprofita állapotban) a sarjadzó sejtalak fordul elő (pl. az üszőgombákhoz tartozó *Ustilago maydis* esetében).

A *Schizosaccharomyces* nemzetségbe tartozó élesztőfajok vegetatív sejtjei hasadással osztódnak (nevüket is innen kapták: a *schizo*- hasadót jelent). A sejtek téglalakúak vagy hengeresek. Osztódásuk alkalmával a sejtek közepén válaszfal (septum) szintézise indul meg, amelynek befejeztével a két sejt szétválék egymástól.

5.2.2.1.2. Fonalgombák

A thallusz vegetatív sejtjei hosszú sejtfonalakból, *hifákból* állnak, amelyek összessége a gombafonalak szövedékét, a *micéliumot* hozza létre. A hifasejt mindig csúcsi növekedésű, ezért felépítése polarizált: az öregebb hifarészek aktivitása csökken, vakuolizálódnak, majd elhalnak (5.12. ábra). Gyakori, hogy ezt megelőzően a túlélést szolgáló, kedvezőtlen környezeti hatásoknak is ellenálló vegetatív szaporító (kitartó) képletek jönnek létre. Ilyenek például klamidospórák, blasztospórák,



5.12. ábra: A fonalagomba sejt csúcsi részének ultrastruktúrája

artrokonidiumok, vagy a penészek sporangiospórái és konidiospórái (röviden konidiumai). A növekedési (megnyúlási) zónába tartozó hifarész biokémiai, fiziológiai és genetikai aktivitása fokozott, szerveződése az általános gombasejt-felépítést mutatja. A legömbölyödött csúcsi részben a már említett vezikulumok tömege figyelhető meg, amelyek főként az új sejtfal szintéziséhez és a régi lebontásához szükséges enzimeket tartalmazzák.

A hifák felépítése jellemző a gombák egyes csoportjaira. Az ősbibb szerveződést képviselik azok a fonalak, amelyekben válaszfal (harántfal) nem figyelhető meg, az egész gombatelep egyetlen sokmagvú óriássejtet alkot. Ez a valódi *cönocita* micélium, amely a *Zygomyceta* (Járomspórás gombák) csoportjába tartozó fajokra jellemző. A fejlettebb gombákat képviselő *Ascomyceta* (Tömlősgombák) csoportjánál fénymikroszkóppal is jól megfigyelhetők a fonalat kisebb rekeszekre osztó egyszerű válaszfalak. A *Basidiomyceta* (Bazidiumos gombák) magasabb fejlettsége a válaszfal felépítésében is tükröződik: ezeknél az egyszerű válaszfalhoz egy változatos felépítésű „dugó” kapcsolódik. Ezt a harántfalat *dolipórusnak* nevezik. A válaszfalak nem szeparálják el egymástól teljesen a sejteket. A rajtuk lévő egy vagy több póruson

keresztül a citoplazma és a sejtmagok áramlása végbemegy, bár az egyes hifaszegmensek kissé eltérő genomot tartalmazhatnak. Ez az oka annak, hogy a fonalagombák telepecinek növekedése során gyakran megfigyelhető morfológiailag eltérő hifaszektorok kihasadása. Ugyancsak gyakori a hifasejtekből genetikailag eltérő kitarító képletek (spórák, konidiumok) létrejötte, ami szintén a vegetatív genetikai szegregációra vezethető vissza.

Mint már említettük, a gombák ivaros folyamatai sokfélék, ami rendszerezésük alapját is képezi. Ezek megismerésére az egyes gombacsoportoknál térünk ki részletesen.

Számos olyan gombafajt ismerünk, amelynek életciklusában mindeddig nem sikerült az ivaros alakot megtalálni. Ennek oka egyrészt abban keresendő, hogy az evolúciós fejlődés során (feltehetőleg az ivaros folyamatban részt vevő gének mutációs inaktíválódása következtében) elvesztették ezt a képességüket, vagy pedig mindeddig nem sikerült még az ivaros alakot felfedezni. Ezeket a gombafajokat *imperpekt* (más néven *anamorf*) alaknak tekintik, és a *Deuteromycetes* csoportba sorolják őket. A molekuláris taxonómia fejlődésével, a DNS-vizsgálaton alapuló módszerek térhódítása következtében egyre több *anamorf* fajnak találják meg az ivaros (*perpekt* vagy *teleomorf*) alakját, vagy bizonyítják, illetve elvetik a korábbi ilyen feltételezést, gyanút.

Gyakran előfordul az is, hogy egyes fajoknak szinte kizárólag csak az *imperpekt* alakja izolálható a környezetből, ezért az identifikálást megkönnyítendő, az *imperpekt* alakok fajnevet is rendre megtartják a gombák rendszerében. Különösen gyakori ez a *penészgombák* esetében, amelyek szintén nem egy rendszertanilag elhatárolt csoportot képviselnek, hanem olyan gombafajokat sorolnak ide, amelyek szaprofitaként növekedve sűrű fehér micéliumtömeget (ún. penészbevonatot) hoznak létre. Ennek előregedésével különböző színű (fekete, barna, zöld, kék, narancsszínű, sárga) sporangiospórák vagy konidiumok is megjelennek a micéliumtömege, amely hamarosan könnyen felismerhető küllemű és jellegzetes penész szagú bevonttá alakul (pl. *Mucor*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Neurospora*, *Fusarium* fajok).

Az élelmiszereken, takarmányokon, szerves anyagokból készült használati eszközöinken megjelenő és elszaporodó penészgombák hatalmas károkat okoznak. Egyrészt ezek élvezeti és tápértékét rontják, és/vagy az egészségre rendkívül káros mikotoxinokat termelnek, illetve eszközeinket, berendezéseinket tönkreteszik. Az ellenük való védekezés rendkívül nehéz, mivel szinte nincs olyan szervesanyag, amelyet a gombák ne tudnának szénforrásként hasznosítani. Rendkívül ellenállóak a környezeti hatásokkal (pH, hőmérséklet, vízakktivitás, ozmotikus viszonyok, redox potenciál, oldószer) szemben is. Szaporodásuknak különösen kedvez a trópusokon uralkodó magas hőmérséklet és páratartalom, ezért az ide szállított anyagok és eszközök penészállóságára megkülönböztetett figyelmet kell fordítani.

Egyes penészgombákat régóta alkalmaznak tradicionális fermentált, keményítő alapú élelmiszerek, valamint hús- és tejtermékek előállításában. Ennek előnye az élvezeti érték növelésén, jellegzetes aromakialakításán kívül, hogy egyrészt a nagymolekulájú keményítőt amiláz enzimeik segítségével kisebb, vízben jól oldódó összetevőkre bontják, másrészt pedig a semleges alatti pH-n elszaporodva anyagcseretermékeik segítségével megakadályozzák a patogén és egyes romlást okozó baktériumok elszaporodását.

Ugyanakkor nem szabad megfeledkeznünk a penészgombák fermentációjával előállított antibiotikumok, egyéb gyógyászati termékek és szerves savak, enzimek óriási gazdasági jelentőségéről sem.

A természeti környezetben, bomló, korhadó növényeken, fákon elsősorban a *Basidiomycetes* (Bazidiumos gombák) csoportjába tartozó fajok szaporodnak el, és hoznak létre a penészbevonathoz hasonló sűrű micéliumtömeget. Ezeknek a gombáknak különösen magas a cellulóz és lignin bontó aktivitása, ezért óriási szerepük van a természetben a szerves anyagok körforgásának fenntartásában, a talaj humusztartalmának növelésében. A barna rothadást okozó gombák szinte kizárólag csak a fák cellulóz tartalmát bontják le, a fenol monomerekből álló lignint nem, erre utal elnevezésük is. Ezzel szemben a fehér rothadást okozó gombák a fáknak mind a lignin-, mind pedig a cellulóztartalmú komponenseit lebontják, ezáltal biztosítják más mikroorganizmusok számára is az asszimilálható szénforráshoz való hozzáférést és a tökéletes humifikálódást. Sajnos, az épületek faanyagát is gyakran megtámadják, ezért állandó védekezésre kényszerülünk ellenük.

Ugyancsak a Bazidiumos gombákhoz tartozik az ún. *nagygombák* többsége, amelyek ivaros szaporodásuk során micéliumtömegekből álló, fejlett *termőtesteket* hoznak létre. A micéliumok sokszor a már korábban említett mikorrhizát alkotják élő növények gyökerein, vagy pedig elhalt növényi részekben, fatönkén nőnek. Megfelelő környezeti feltételek között az ivaros szaporodás kezdeti, sejtfúziós lépésén átesett ún. dikarion micéliumból termőtest nő ki, amelynek morfológiája fontos (szinte kizárólagos) határozó bélyeg. Számos termőtest emberi és állati fogyasztásra alkalmas, egyeseket termesztnek is (pl. csiperke, laskagomba), mások azonban veszélyes mérgeket (toxinoikat) vagy hallucinogén anyagokat tartalmaznak (pl. légyölő galóca).

5.2.2.2. A valódi gombák alországa (*Subregnum: Eumycota*)

Ebben a fejezetben bemutatjuk a (valódi) gombák országának négy rendszertani csoportját, amelyeket tagozatnak (*divisionak*) tekintenek. (A *divisio* megfelel a növények rendszerezésénél alkalmazott *phylum* kategóriának). Külön országgént tárgyaljuk a bevezetőben már említett okok miatt a *Nyálkagomba* és az *Oomycota* csoportokat.

Az *Eumycota* felosztása:

Tagozat: *Chytridiomycota* (Vízi gombák)

Tagozat: *Zygomycota* (Járomspórás gombák)

Tagozat: *Ascomycota* (Tömlősgombák)

Tagozat: *Basidiomycota* (Bazidiumos gombák)

Legfontosabb jellemzőiket az 5.1. táblázatban mutatjuk be.

A *Chytridiomycota* (Vízi gombák) tagozata

A legősibb gombacsoportot képviselik. Mint nevük is mutatja, az ide tartozó fajok vízhez kötött életmódot folytatnak. Hifáik valódi cönocita (nem szeptált) felépítésűek. Ivaros szaporodásuk vízben mozgó ostoros *rajzospórák* segítségével megy végbe, míg ivartalan szaporodásuk során többféle sejt-, illetve teleptípust hoznak létre. Mind morfológiájukat, mind pedig életmódjukat tekintve rendkívül heterogén gombacsoport. A szaprofita fajok főként édesvizekben és nedves élőhelyeken élnek, ahol extracelluláris enzimeik révén jelentősen hozzájárulnak a komplex polimer molekulák (cellulóz, kitin, keratin) lebontásához.

Sok parazita fajuk is ismert, amelyek más gombafajokon, növényeken és állatokon élősködnek. Általában alacsonyabbrendű élőlényeket (algákat, protozoákat, gombaszerű szervezeteket) támadnak meg, de néhány haszonnövényt is megfertőznek. Utóbbi esetben fontos vírusvektorok is lehetnek. Főként a rovarok számára jelentenek veszélyes élősködőket. Magas kitináz aktivitásuk segítségével feloldják a rovarok kitintakaróját, majd behatolnak szervezetükbe. Egyes fajaik obligát anaerobok, ezek növényevő rovarok és emlősök emésztőrendszerében élnek.

Fontosabb képviselőik:

Olpidium brassica: káposztafélék kórokozója és fontos vírusvektora.

Allomyces fajok: szaprofionta élőlények. Laboratóriumi körülmények között jól tenyésztethetők, biológiai szempontból a legismertebb vízigombák.

Blastocladi fajok: szaprofionta életmódot folytató, aerotoleráns anaerob (tejsavas erjesztő) fajok tartoznak ide. Sejtnyúlványaikkal (rhizoidjaikkal) vízbe merülő növényi részekhez tapadva élnek.

Coelomomyces fajok: rovarok, elsősorban a szúnyogok obligát parazitái.

Physoderma maydis: a kukoricát károsító kórokozó.

A *Zygomycota* (Zigospórás [Járomspórás] gombák) tagozata

A gombák evolúciós fejlődésében megfigyelhető volt a vízből a szárazföldre való fokozatos „kivándorlás”, ami egybeesett a növények hasonló fejlődési irányával, sőt valószínűleg a mikorrhiza biztosította a növények számára a megfelelő tápanyagfelvételt. A szárazföldi életmódhoz alkalmazkodott, ma élő gombák legősibb cso-

5.1. táblázat: A valódi gombák felosztása és főbb jellemzőik

Csoport	(Tágozat) neve		Becsült fajszám	Ivaros spóra típusa	Képviseelő	Élőhely
	Latinul	Magyarul				
Zygomycota	Járomspórás gombák	Járomspórás gombák	600	zigospóra	<i>Mucor spp</i> <i>Rhizopus spp</i>	talaj korhádó növények
Ascomycota	Tömlősgombák	Tömlősgombák	35 000	aszköspóra	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Neurospora crassa</i> <i>Marchelia esculenta</i>	talaj korhádó növények növényi paraziták
Basidiomycota	Bazidiumos gombák	Bazidiumos gombák	30 000	bazidiospóra	<i>Agaricus bisporus</i> <i>Puccinia graminis</i>	talaj korhádó növények mikorrhiza növényi paraziták
Deuteromycota	Imperféki gombák	Imperféki gombák	30 000	nincs	<i>Penicillium spp</i> <i>Aspergillus spp</i> <i>Candida spp</i>	talaj korhádó növények állati és humán paraziták

portját a zigospórás gombák (*Zygomycota*) képviselik. Ezek már sem az ivaros, sem pedig az ivartalan szaporodási ciklusukban nem igénylik a víz jelenlétét. Ez nyilvánul abban is, hogy spóráik mozdulatlanok, nem rendelkeznek ostorral. Az ide tartozó gombák általános jellemzője, hogy a micéliumot harántfal nélküli, valódi *cönocita* hifák építik fel. Viszonylag kis fajszámot (kb. 600) foglal magába.

Két osztályuk közül egyértelműen ide sorolják a *Zygomycetes* (Fejes penészek) osztályát. Ennek két fontos rendje a *Mucorales* és az *Entomophthorales*, amelyek közül az első főként szaprofita, míg a második rovarparazita fajokat foglal magába.

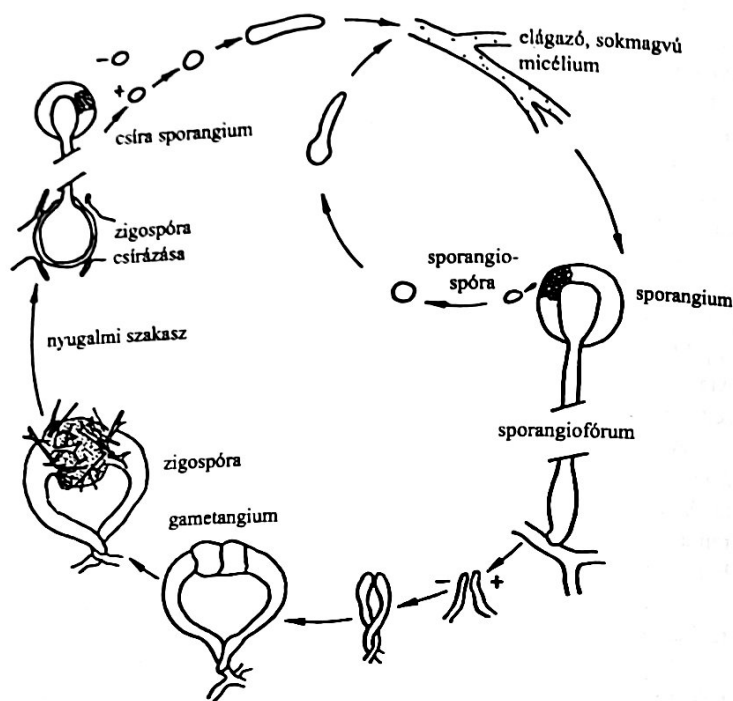
A *Mucorales* rend fajai növényi és állati eredetű anyagokon gyorsan elszaporodva, vastag penészbevonatot hoznak létre. Különösen gyakori raktári kártevők, gyümölcsök, zöldegek rothadását okozzák. A magas ozmózis nyomást, savas pH-t is jól tűrik, ezért konzervált gyümölcskészítményekben is gyakran elszaporodnak. Alacsony oxigénnyomás mellett alkoholosan erjesztenek, ilyenkor gyöngyszerű sejteket („gyöngyélesztőt”) hoznak létre.

A kenyér penészedését főként a *Rhizopus stolonifer* okozza, bár különböző *Mucor* és *Actinomucor* fajok (*M. rouxii*, *M. mucedo*, *A. repens*) is előfordulnak rajta. A *Mucor* és *Rhizopus* nemzetség fajai a keleti fermentált élelmiszerekben gyakran az uralkodó mikrobiótát képviselik (pl. a *R. oligosporus* és *R. oryzae* a szójából készült tempeh esetében).

Viszonylag ritka közöttük a parazita, kórokozó faj, bár tudomikózisoknál esetenként előfordulnak *Mucor* és *Rhizomucor* fajok.

A *Phycomyces* fajok gyakran izolálhatók a természetből, aktív szerepet játszanak a szerves anyagok lebontásában. Életciklusuk általában teljes, az ivartalan (aszexuális) ciklus mellett az ivaros (szexuális) is megtalálható (5.13. ábra). Vegetatív (ivartalan) szaporítósejtjeik a *sporangiospórák*, amelyek a *sporangiofórumon* létrejövő, gömb alakú *sporangiumban* endogén úton keletkeznek. A sporangium megérésekor a burok felreped, és a sporangiospórák kiszabadulnak. A spórák melaninban gazdagok, ezért sötét, többnyire fekete, szürke vagy barnás színűek. Kedvező életani feltételek között kicsíráznak, és cönocita micéliumot hoznak létre. A micélium feldarabolódásával (fragmentálódásával) vastagfalú, ellenálló sejtek, ún. *klamidospórák* is keletkezhetnek.

Ivaros szaporodásukhoz kétféle párosodási típusú (+ és –) törzs találkozása szükséges. Ezek hormonszerű anyagokat (ún. feromonokat) bocsátanak ki, amelyek hifanyúlványok (ún. zigofórok) képződését indítják el. A haploid sejtmagokat tartalmazó zigofórok fuzionálnak (plazmogámia), így dikarion zigospórakezdemény alakul ki. A zigospóra fala fokozatosan megvastagodik, rücskös, fekete színű lesz. Közben végbemegy a sejtmagvak fúziója (kariogámia), majd a meiózis. Ezt követően a zigospóra kedvező ökológiai feltételek között kicsírázik, és *zigosporangiumot* hoz létre. Ebben a vegetatív úton létrejövő sporangiospórákhoz morfológiailag hasonló, haploid meiospórák keletkeznek.



5.13. ábra: A *Phycomyces blakesleeana* életciklusa

Az *Entomophthorales* rend fajai (mint már említettük), rovarparazita voltak miatt váltak ismertté. Ilyen például a légyen élősködő *Entomophthora muscae*. A parazita fajok mellett azonban szaprofiták is előfordulnak.

Az Ascomycota (Aszkuszos [Tömlős] gombák) tagozata

A gombák legnépesebb tagozatát képviselik. Elnevezésüket az ivaros szaporodás során keletkező *aszkuszról* (börtömlő vagy zsák) kapták, amely egyszerű, „csupasz” formában (élesztőgombák), vagy pedig szabályos termőtestbe (ascocarp) tömörülve (fonalas aszkomicéták) a meiózissal létrejött *aszkospórákat* tartalmazza. Számos olyan fajt ismerünk, amelyek elvesztették ivaros szaporodási képességüket, morfológiai, citológiai és molekuláris jellemzőik alapján azonban egyértelműen ebből a csoportból származtathatók. Ezeket a *Deuteromycota* (Imperfekt gombák) csoportjába sorolják.

Az aszkusz kialakulásának módja az egysejtű élesztőgombáknál és a fonalgombáknál jellegzetes különbségeket mutat, bár a két csoporton belül is lényeges lehet az eltérés, sőt az egyes fajok között is. Az élesztőgombáknál a haploid sejtek fúziójával létrejött egyetlen diploid sejtben játszódik le a meiótikus osztódás, melynek eredményeként többnyire négy haploid aszkospóra keletkezik. Tulajdonképpen maga a diploid sejt alakul át aszkusszá. A fonalgombáknál a haploid sejtmagvú hifák fúziójával dikarion (heterokarion) micélium alakul ki, ez hozza létre jellegzetes *horogképződés*en keresztül a diploid sejtmagot, amelynek meiózisos osztódásával a termőtestben kialakulnak az aszkuszkok (ezt részletesen később ismertetjük).

Az Ascomycota tagozatot a jelenleg elfogadott rendszerezés szerint 3 osztályra bontják: *Archiascomycetes*, *Hemiascomycetes* és *Euascomycetes*. Az első élesztő és fonalas sejtalakot mutató fajokat, míg a második főként élesztőket, a harmadik pedig a fonalas gombafajokat foglalja magába. Az egyes osztályok bemutatásakor csak a fontosabb nemzetségeket vagy fajokat ismertetjük, a részletes rendszertantól eltekintünk.

Archiascomycetes osztály

A korábban már többször emlegetett *Schizosaccharomyces* fajok ide tartoznak. A *Schiz. pombe* és a *Schiz. octosporus* vegetatív szaporodása során hasadással osztódó élesztősejteket hoz létre, míg a *Schiz. japonicus* valódi hifákat is képez. Ivaros szaporodásuk során két haploid sejt egyesül, az így létrejövő diploid sejt azonnal meióziszba kezd, majd aszkusszá alakul.

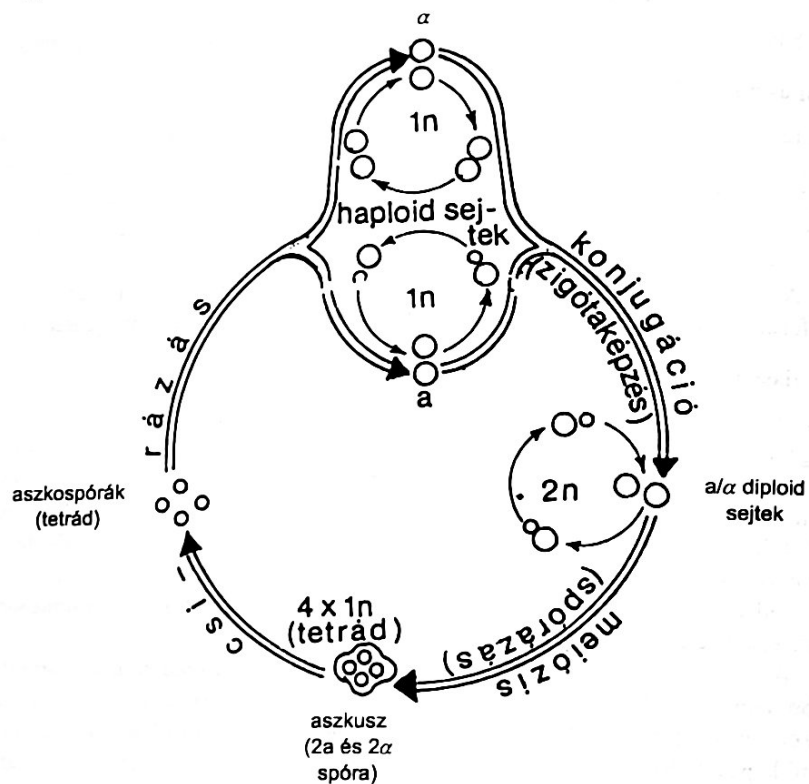
A *Taphrina* fajok főként fákon élősködnek, a *T. pruni* például szilvafán. Ilyenkor fonalas sejtformát mutat, míg szaprofitaként tenyésztve az élesztő forma jellemző rá.

Hemiascomycetes osztály

Egyetlen rendet, a *Saccharomycetales*-t (régábbi nevén *Endomycetales*-t) foglalja magába, amelyet szoktak valódi élesztőknek is hívni. Jellemző vegetatív sejtformájuk az egysejtű sarjadzó élesztősejt, de számos alaknál megfigyelhető valódi vagy álmicélium. Általában jól erjesztenek, nagy cukorkoncentrációjú élőhelyekről izolálhatók. Az egyes fajok a spontán erjedéseknél jellegzetes asszociációt alkotnak, egymásra következésüket a növekvő etanolkoncentráció határozza meg. A részletes rendszertani felosztás ismertetésétől ez esetben is eltekintünk, csak a fontosabb nemzetségeket, illetve fajokat mutatjuk be.

A *Saccharomyces* az egyik legismertebb és gyakorlati szempontból legfontosabb nemzetség. Két csoportra osztják, a *Saccharomyces sensu stricto* (szorosabb rokonsági kapcsolatban lévő), valamint a *Saccharomyces sensu lato* (távolabbi rokoni kapcsolatban lévő) fajok. Előbbiekhez tartoznak az erjedési iparokban (sör-, bor-, szeszipar) és a sütőélesztőként alkalmazott fajok (*S. cerevisiae*, *S. bayanus*, *S. pastorianus*), valamint a természetből izolálható *S. paradoxus*. Erősen erjesztenek,

aminek fő oka a kiemelkedően nagy alkohol-toleranciájuk (10–15%). Jellemző rájuk, hogy általában mind haploid, mind pedig diploid állapotban képesek sarjadzással szaporodni. Az 5.14 ábrán a *S. cerevisiae* életciklusát mutatjuk be, amely nemcsak az iparban, hanem az alap kutatásban is az egyik legfontosabb eukarióta mikroorganizmus. Haploid sejtjei kétféle párosodási típushoz tartoznak (a és α), amelyek ivari hormonok (feromonok) termelésével kölcsönösen ivarsejtekké alakítják egymást. Az eltérő párosodási típusú sejtek konjugációjával dikarion, majd diploid zigóta alakul ki. Ebből mitózissal diploid vegetatív sejtek jönnek létre, amelyek jó tápanyag-elátottság esetén tovább szaporodnak. Nitrogén-éhezés hatására (pl. acetát szénforrás adagolásakor) lejártsódik a meiózis, melynek eredményeként az askuszá alakult sejtben négy haploid meiospóra jön létre. Ezek kicsírázásával ismét haploid vegetatív sejtek alakulnak ki.



5. 14. ábra: Heterotallikus *Saccharomyces cerevisiae* törzsek életciklusa

A *Dekkera*, *Debaryomyces* és *Zygosaccharomyces* fajok leggyakrabban spon-tán erjedésekből izolálhatók, de a *Zygosaccharomyces rouxii* és *Z. bailii* fajok ozmotoleranciájuk, savakkal és tartósítószerrel való ellenállásuk miatt a leggyakoribb élelmiszer romlást okozó élesztőgombák.

A *Hanseniaspora uvarum* (anamorf: *Kloeckera apiculata*) jellegzetes citrom alakú sarjadzó sejtjei boroknál az alkoholos erjedés elején figyelhetők meg.

A *Kluyveromyces* fajok legfőbb jellemzője, hogy a laktózt szénforrásként hasznosítják, sőt erjesztik is, bár alkohol-toleranciájuk rosszabb mint a *Saccharomyces* fajoké.

Az *Endomycopsis fibuligera* képes a keményítő teljes lebontására, mivel az amilolitikus penészgombákhoz hasonló, komplett amiláz enzimrendszerrel rendelkezik. Ugyancsak keményítőbontó élesztőgomba a *Lipomyces kononenkoe*, amelynek emellett még lipáz aktivitása is van. A *Lipomyces* család fajai egyébként többnyire talajlakó élesztőgombák, egyes fajok rovarokkal élnek asszociációban.

A *Galactomyces candidum* (anamorf: *Geotrichum candidum*) valódi micéliumos élesztőgomba, amely megöregedve artrospórákra törik szét. Ugyancsak magas a lipáz aktivitása, tejtermékek tetején gyakran fehér micélium bevonatot képez.

Anamorf (imperpekt) élesztőgombák

Számos olyan élesztőgomba faj létezik, amelynél a szaporodás folyamán ivaros folyamat nem figyelhető meg. Ezeket anamorf (imperpekt) fajoknak tekintik. Sok fajnál időközben megtalálták az ivaros (teleomorf) alakot, amelyet korábban külön fajként írtak le. Így pontos rendszertani besorolásuk is megtörténhetett, és az anamorf fajt a teleomorffal együtt tartják nyilván. A molekuláris biológiai módszerek alkalmazásával különösen felgyorsult az anamorf-teleomorf párosítás, bár várhatóan szép számmal maradnak olyan teleomorf fajok is, amelyek véglegesen elvesztették az ivaros szaporodási képességüket és nincs teleomorf alakjuk.

A morfológiai, sejtfelszerkezeti, koenzim Q típus és jellemző biokémiai reakciók (ureáz próba, dazónium kék reakció) alapján az imperpekt élesztőfajok egyrészt az askomiceta, míg más részüket a bazidiomiceta gombák közé sorolják. Három jellegzetes (mesterséges) nemzetségük a *Candida*, *Cryptococcus* és a *Rhodotorula*. Az elsőbe askomiceta rokonságú, míg a másodikba és a harmadikba bazidiomiceta rokonságú fajok tartoznak.

Az anamorf alakkal nem rendelkező *Candida* fajok előfordulása és jelentősége sokrétű. Egyrésztük mint humán kórokozó gyakran izolálható mikózisokból (gombás megbetegedésekből). Ilyenek a már korábban emlegetett *C. albicans*, vagy az immunrendszer gyengülésekor támadó *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* fajok. A *C. stellata* jó alkohol-toleranciája miatt erjedő mustban viszonylag sokáig részt vesz az erjesztésben, más *Candida* fajok pedig élelmiszerek-nél mint romlást okozók fordulnak elő gyakran.

Euscomycetes osztály

Ide tartozik az összes, előzőekben nem tárgyalt, tehát fonalas aszkomiceta gombafaj. Jellemző rájuk, hogy az ivaros folyamat során nagyszámú aszkusz jön létre, amelyek termőtestben helyezkednek el. A termőtesteket négy morfológiai típusba sorolják, úgymint a gömb alakú zárt *kleisztotécium*, a kis nyílást tartalmazó *peritécium*, a tányérszerűen ellaposodó *apotécium* és a peritéciumhoz hasonló *pszuodotécium*. Az osztályon belüli rendszertani felosztás is ennek megfelelő alosztályokra történik.

A Plectomycetes (kleisztotéciumos gombák) alosztálya

Termőtestük kleisztotécium. Nagyon heterogén csoport, amelybe szaprofita, valamint növény- és állatparazita fajok tartoznak. Az *Ascosphaera apis* a háziméh kórokozója, amely időnként súlyos pusztítást okoz a méhészetekben. A *Histoplasma capsulatum* és a *Blastomyces dermatitis* imperfekt alakok, amelyek embernél a hisztoplazmózis, illetve a dermatomikózis betegséget okozzák.

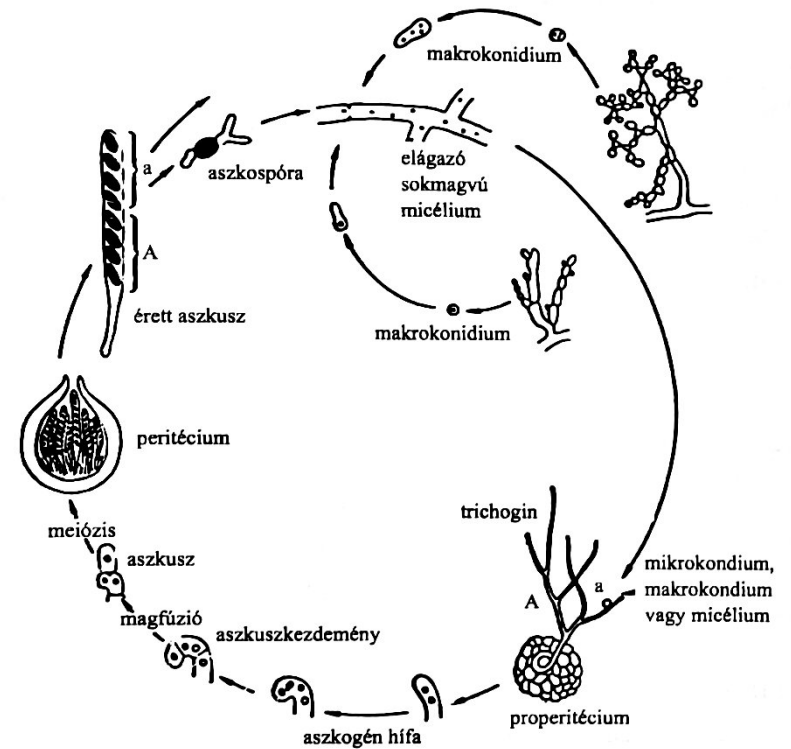
Talajban, bomló állati maradványokon szaprofitaként nőnek a *Trichophyton* és a *Microsporium* fajok, amelyek embernél vagy állatnál dermatomikózist (bőrgombásodást) okozhatnak.

Ide tartoznak a korábban már említett penészgombák közül a *Penicillium*, *Aspergillus* és *Paecilomyces* nemzetség anamorf fajai, bár nem minden anamorf faj esetében találtak meg a teleomorfi képviselőt. Morfológiai jellemzők alapján azonban a csak anamorfi alakot mutató fajokat is ide sorolják. Gyakran izolálhatók friss vagy raktározott növényi eredetű élelmiszerről. Vízkaktivitás igényük kisebb mint a baktériumoknál, ezért tárolt gabonánál, gabonakészítményeknél, dzsemeknél is nagy veszteséggel vagy minőségromlással járó penészedést okozhatnak. Előfordul náluk a mikotoxin termelés is (ilyen például az *Aspergillus flavus* által termelt aflatoxin). Ugyanakkor számos fajuk értékes másodlagos metabolitot termel, mint például a penicillint a *Penicillium* fajok. Az *Aspergillus niger* citromsav- és glükóamiláz-termelő képességét hasznosítják az iparban.

A Pyrenomycetes (peritéciumos gombák) alosztálya

Termőtestük peritécium, amely egy sűrű micéliumszövedékbe, a sztrómába beágyazva fejlődik ki. Találhatók közöttük növényi, állati és gomba parazita fajok, számos közülük veszedelmes mezőgazdasági kártevő. Jelentősek a szaprofita fajok is, melyek közül a *Trichoderma* nemzetséghez tartozók nagy extracelluláris szénhidrátbontó enzimaktivitással rendelkeznek. Biodegradációs szerepük jelentős, újabban nagy aktivitással dolgoznak biológiai védekezésre alkalmas törzsek kifejlesztésén. Az anamorfi *Fusarium* fajok többsége növénypatogén vagy raktári kártevő, amelyek többféle veszélyes mikotoxint is termelnek (pl. a trichotecén vázas T-2 toxin vagy

az F-2 toxin néven ismert zearalenon). Anamorfi nemzetségeik a *Gibberella* és a *Nectria*. A *Claviceps purpurea* a rozs vagy más gabonafélék kalászát fertőzi meg, majd a szem helyén egy eltorzult képlet, ún. varjúkőröm alakul ki. Ez egy gombafonalak szövedékéből álló kitarító képlet, a szklerócium, amelyből áttelelés után az ivaros szaporító képletek, a peritéciumok jönnek létre. Az anyarozsban számos, a gyógyászatban régóta használt ún. ergot alkaloida található. Ugyancsak gyógyászati szempontból jelentős az *Acremonium chrysogenum*, amely a cephalosporin típusú antibiotikumokat termeli. A *Neurospora crassa* a klasszikus genetikai kutatások legjelentősebb faja, amelynél nagyszámú mutáns segítségével meghatározták az ivaros szaporodást kísérő meiózis genetikai folyamatait és szabályszerűségeit. Az 5.15 ábrán ennek a fajnak az életciklusát mutatjuk be.



5.15. ábra: *A Neurospora crassa* életciklusa

A *Discomycetes* (apotéciumos gombák) osztálya

Termőtestük nyitott, lapos vagy kissé hajlott, kehelyszerű *apotécium*. Morfológiájukat és életmódjukat tekintve nagyon változatos csoport, amelyek között szaprofita, parazita, endofita és szimbionta fajokat egyaránt megtalálunk. A *Monilia* fajok gyümölcsfák, illetve termésük moniliás betegségéért felelősek. A *Botrytis cinerea* szőlőnél hűvös, esős őszi idő esetén szürkerothadást okoz, míg száraz, napos őszi időjárásnál megfelelő termőhelyi és klimatikus viszonyok között az ún. nemesrothadást váltja ki, ami a szőlőszemek aszúsodásával jár. A szarvasgomba néven ismert *Tuber aestivum* a talajban hozza létre a termőtestet, amely a legdrágább étkezési gomba. A *Tuber* fajok egyébként fák gyökerén micéliumbevonatot képező, ún. mikorrhiza gombák. Ugyancsak nagygombaként ismertek a *Morchella* fajok, amelyeket jellegzetes alakú termőtestük alapján kucsmagombáknak hívnak.

A *Basidiomycota* (Bazidiospórás [*Bazidium*] gombák) tagozata

Evolúciós szempontból a legfejlettebb gombák tartoznak ide. Közös jellemzőjük, hogy ivaros szaporodásuk során a meiózis eredményeként a bazidiumon négy haploid bazidiospóra jön létre. Két jól elhatárolható csoportjuk (osztályuk) a *Heterobasidiomycetes* és a *Homobasidiomycetes*, amelyek közül az első a nem differenciálódott termőtesttel rendelkező fajokat, míg a második a fejlettebb, változatos, nagy differenciált termőtest kialakítására képes, ún. kalaposgomba vagy pöfegomba fajokat foglalja magába.

A *Heterobasidiomycetes* osztály

Növényi paraziták, amelyek ivaros szaporodásra csak a gazdaszervezetben képesek, míg szaprofitaként változatos sejteket hoznak létre. A rozsdagombák (*Uredinales*) rendjébe tartozó fajok elsősorban növények leveleit megfertőzve azon rozsdafolthoz hasonló szöveti elhalást okoznak. Gabonaféléknél jelentős kárt okoznak. Legismertebb képviselőjük a gabonaféléken és sóskaborbolyán élősködő *Puccinia graminis*.

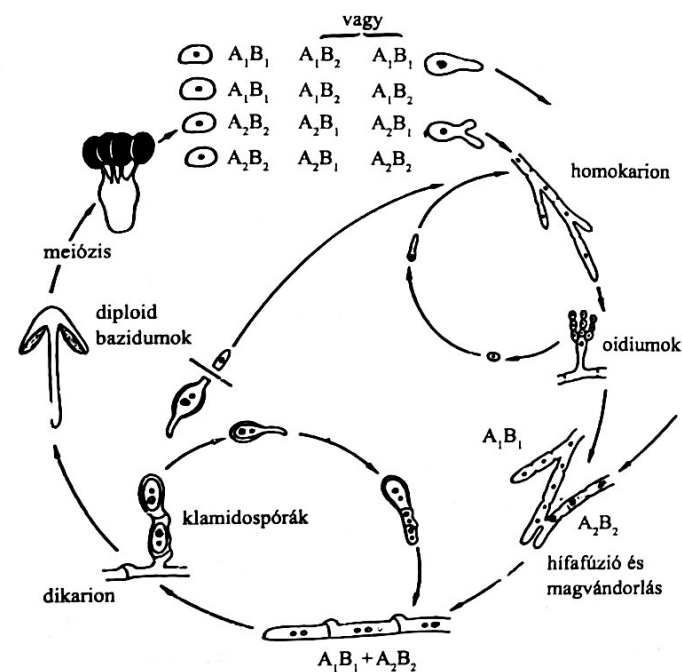
Az üszöggombák (*Ustilaginales*) rendjébe tartozó fajok sokféle növényen képesek parazitaként élni, amelyek a növényt megfertőzve a szöveteket burjánzásra készítik. A létrejövő kisebb-nagyobb fehér daganatokban az ivaros folyamat eredményeként érett fekete üszögspórák (bazidiospórák) tömege alakul ki. Szaprofita tenyészetek élesztőszerű sejtekből állnak. Legismertebb képviselőjük kukorica golyvásüszög (*Ustilago maydis*).

A *Homobasidiomycetes* osztály

A bazidiumok fejlett, a szöveteket megközelítő szervezetségű termőtestben jönnek létre. A hifák ezeknél is haploid sejtmagokat tartalmaznak, amelyek azonban egy genetikai szempontból összetettebb párosodási rendszert kódolnak. Míg az előző-

ekben megismert gombacsoportoknál a párosodási típusokat egy gén vagy lókuszt kétféle formája (allélje) határozza meg (ún. bipoláris rendszerek), addig ezeknél a gombáknál két lókuszt két-két génjének több (sokszor több tíz) allélja szabályozza a párosodást (ún. tetrapoláris rendszerek).

Az osztályba tartozó fajok képviselőjeként a *Coprinus lagopus* életciklusát mutatjuk be az 5.16. ábrán. Az egymással párosodni képes (kompatibilis) hifák mind a négy párosodási (mating) génben egymástól eltérő allélt kell, hogy hordozzanak. A hifák fúziójának eredményeként dikarion (magpáros) hifa jön létre, amely növekedése során jellegzetes csatképzéssel biztosítja, hogy mindkét szülői sejtmag 1:1 arányban maradjon fenn a hifában. Megfelelő környezeti viszonyok között a magpáros hifa jellegzetes termőtestet (ún. kalapot) hoz létre, amelynek a termőrétegében (himéniumában) végződnek a fonalak. Itt, a bazidiumban játszódik le a sejtmagok egyesülése (kariogámia), majd a meiózis, melynek eredményeként 4, haploid sejtmagot tartalmazó bazidiospóra fűződik le a bazidiumról. A spórák megérésük után leválnak a bazidiumról, jellegzetes színük adja a termőréteg színét. Rendszertani csoportosításuk elsősorban a termőtest morfológiája alapján történik.



5.16. ábra: A *Coprinus lagopus* életciklusa

Az *Agaricales* rendbe tartozó fajoknál a termőréteg lemezes vagy csöves. A legtöbb ehető gomba ide tartozik, de sok a mérgező faj is. A *Pleurotus* fajok (laskagombafélék) kedvelt termesztett és vadon élő gombák. A *Lentinus edodes* (sütiake) kedvező élettani hatású anyagai miatt világszerte kedvelt, keleti eredetű termesztett gomba. Az *Amanita caesarea* (Császárgalóca) kellemes ízű, vadon élő faj, míg az *A. muscaria* (Légyölő galóca) és az *A. phalloides* (Gyilkos galóca) a legveszélyesebb mérgező gombák közé tartoznak. Az *Agaricus* nemzetség vadon termő fajai éghajlatunkon elterjedtek (pl. *A. campestris*, *A. bitorquis*), de ide tartozik a legnagyobb mennyiségben termesztett *A. bisporus* (Champignon gomba) is.

A *Boletus* fajokra (Timorüfélek) a csöves termőréteg jellemző. Néhány fajuk kellemes ízű ehető gomba (pl. *B. edulis*, *B. mirabilis*), de előfordul közöttük néhány mérgező is (pl. *B. satanas*). Erdőkben nőnek, ahol fák gyökereinek mikorrhizát alkotnak.

A taplófélékre szintén a csöves termőréteg jellemző, amelyek fonalai behálózák az élő fákat, majd elpusztítják és felületükön jellegzetes termőtestet, a taplót hozzák létre. Erdészeti kártételük jelentős. Leggyakoribb fajaik a tölgyerdők parazitája, a *Trametes versicolor* (Lepketapló), a fenyőerdőkben súlyos károkat okozó fenyőgyökér tapló (*Fomes annosus*), a bükkerdőkben élősködő bükkfatapló (*Fomes fomentarius*), amelyekből használati eszközöket, dísz tárgyakat is készítenek. A sokszor látható félig elszáradt, torz fák ilyen gombakártevőknek estek áldozatul (lásd Csontváry: Magányos cédrus).

5.2.2.3. Az álgombák/gombaszerű szervezetek alországa (Subregnum: *Pseudomycota/Stramenopila*)

Ennek a csoportnak az elnevezésében is tükröződik, hogy bizonyos tulajdonságaikban hasonlítanak a gombákra, más tulajdonságaik alapján azonban nem sorolhatók be egyértelműen a valódi gombák közé. Az evolúciós fejlődést tekintve ez a csoport valószínűleg még a valódi gombák és a növények kialakulása előtt kivált és külön ágon fejlődött tovább. Heterotróf táplálkozásukban, életmódjukban hasonlítanak a gombákra, míg szaporodásuk, ivarsejtjeik vízhez kötött mozgása az algákra, illetve a protozoonokra emlékeztet. Ugyancsak köztes jellegüket mutatja, hogy sejtfaluk – ha van – cellulózból és glükánból épül fel. Növényi rokonságukra utal, hogy sokszor fényérzékelő sejtek is megtalálhatók náluk, valamint fény hatására sejteik aggregálódni képesek. Az álgombákon belül azonban heterogén, egymással csak távoli rokonságban lévő csoportok találhatók. Sok parazita faj fordul elő közöttük.

Az *Oomycota* (Oospórás vagy petespórás gombák) tagozata képviseli legjelentősebb csoportjukat. Életciklusuk nagy részét diploid sejtekként élék le, a haploid állapot csak az ivarszervekre, illetve az ivarsejtjeire korlátozódik. Egyik „hírhedt” fajuk a *Phytophthora infestans*, a burgonyavész kórokozója, amely ma is súlyos veszteségeket okoz a mezőgazdaságban. A *Plasmopara viticola* a szőlő peronoszpórás

megbetegedését idézi elő. Közeli rokonai a *Peronospora* fajok, amelyek különböző növényeket támadnak meg, parazitaként élnek rajtuk.

5.2.3. A Nyálkagombák országa (Regnum: *Myxomycota*)

A *Nyálkagombák* (*Myxomycota*) csoportot a legújabb rendszertanban külön országgént tartják számon, amelyek hasonlóan az előbbieken ismertetett *Oospórás gombákhoz*, több tulajdonságukban, életciklusukban hasonlítanak a valódi gombákra, számos jellegzetességükben azonban inkább a protisztákra emlékeztetnek. A gombákhoz hasonlóan spórákat képeznek, ugyanakkor a protozoonokra jellemző amöboid mozgással gyorsan haladnak szilárd felületen. Sejtszerveződésüket tekintve két típusukat lehet elkülöníteni: a sejtfállal nem rendelkező, többmagvú (diploid) plazmódiumot létrehozó valódi vagy acelluláris nyálkagombákat, valamint a vegetatív sejtekként sejtfállal rendelkező, pseudoplazmódiumot képező sejtes vagy celluláris nyálkagombákat.

A *Plazmódiumos* (acelluláris) nyálkagombák életciklusában haploid és diploid sejtek figyelhetők meg. A vegetatív sejtek hatalmas amöbára emlékeztető, sokmagvú protoplazma masszából állnak, amelyek amöboid mozgással haladva a felületen, bekebelezik az útjukba kerülő, táplálékul szolgáló szervesanyag-részecskéket, baktériumokat, élesztőgombákat. A mozgás a már említett aktin molekulákból felépülő, sejtmembrán alatt elhelyezkedő fonalak hálózata segítségével történik. Mozgásukat határozza meg a citoplazma áramlása, miközben a sejten membránnal elhatárolt, fonalasszerkezet alakul ki. A fonalak mozgás közben összeolvadnak, majd ismét kisebb fonalakra oszlanak szét. Legismertebb képviselőik a *Physarum* nemzetség tagjai (pl. *P. polycephalum*), amelyek nedves, korhadó fákon, avaron szabad szemmel is jól látható, sárgától a pirosig terjedő színű plazmódiumot képeznek. A tápanyagok elfogyása vagy kiszáradás esetén a diploid plazmódium a fény irányába vándorol, majd jellegzetes, nyélen ülő termőtestek (sporangiumok) nőnek ki belőle. Ezekben meiótikus osztódással haploid, cellulóz sejtfállal körülvett, szélsőséges környezeti viszonyoknak is ellenálló spórák jönnek létre. Az érett spórák kiszabadulva a sporangiumból rovarok és szél útján terjednek. Nedves környezetben a spórák kicsiráznak, így ostor nélküli myxamöbák és ostoros rajzósejtek alakulnak ki. Ezek egymással fuzionálva diploid zigótát hoznak létre, amelyből hosszabb-rövidebb idő után a sejt növekedésével és a sejmagok szinkron osztódásával ismét kialakul a plazmódium.

A korábban egy csoportba sorolt sejtes nyálkagombákat a legújabb rendszerezésnél két tagozatra osztják (*Dictiosteliomycota* és *Acrasiomycota*), amelyek azonban a életciklust tekintve sok hasonlóságot mutatnak. Legismertebb képviselőjük a *Dictyostelium discoideum*, amely az ivaros folyamat és differenciálódás tanulmányozásának egyik kedvelt modell szervezete. Vegetatív sejtjei a sejtfállal rendelkező

myxamóbak. Táplálkozásuk fagocitózissal történik, és mindaddig mitózissal osztódnak, amíg nedves környezet és elegendő táplálék áll rendelkezésre. Ha a táplálék elfogy, a sejtek cAMP-t (ciklusos adenozin-monofoszfátot) és egy jellegzetes glikoproteint (feromont) kezdenek el kiválasztani, amelyek segítségével magukhoz vonzzák a többi myxamóbát (kemotaxis), majd aggregálódnak. Így *psuedoplaszmódium* jön létre, amelyben az egyes sejtek elvesztik önállóságukat, bár nem olvadnak össze. Ez a psuedoplaszmódium táplálkozik, nyálkát hagyva maga után vándorol a felületen, majd mozdulatlanná válik. A benne lévő sejtek differenciálódásával először egy nyél és fej nő ki, amelyből kialakul a termőtest (sorocarp). A termőtestben *ivartalan úton* spórák jönnek létre, amelyek kihajtván a már említett myxamóbát hozzák létre. A myxamóba sejtek egy része aggregálódik, cellulóz sejt-fallal veszi magát körül és *makrocisztává* alakul. A makrocisztában két myxamóba sejt konjugál, a keletkező nagy amóba pedig bekebelezi a többit. Az érett makrocisztában hosszabb-rövidebb nyugalmi időszak után végbemegy a meiózis, majd új myxamóbak jönnek létre.

5.2.4. Az Algák országa (*Regnum: Algae*)

Az algákkal foglalkozó tudomány a fikológia vagy algológia. Az algák olyan eukarióta organizmusok, amelyek kloroplasztiszt tartalmaznak és fotoszintézissel oxigént termelnek. (Ne tévesszük őket össze a cianobaktériumokkal, amelyek fotoszintézissel szintén termelnek oxigént, azonban prokarióta mikroorganizmusok!) A legtöbb alga mikroszkopikus méretű, azonban vannak közöttük több méterre is megnövő tengeri moszatok.

Nedves környezetben, sós és édesvizekben élnek a felülethez tapadva (benton) vagy pedig szabadon úszva, lebegve a vízben (plankton). Kisebb részük él csak a víz felszínén. Néhány esetben endoszimbiózisba lépnek protozoonokkal, kagylókkal, férgekkel, korallokkal. A zuzmók zöldalgák és aszkomicéták szimbiózisával alakultak ki.

Az algák törzsfajlásukat tekintve nagyon heterogének, amelyek egyes csoportjai a növényekkel (pl. zöldalgák, vörösmoszatok), mások a protozoonokkal (pl. Eugléna-félék) hozhatók közelebbi rokonságba. Néhány algacsoport ezeknél jóval korábban alakult ki (pl. barnamoszatok, diatomák). Felépítésük is nagyon változatos: a mozdulatlan vagy ostorral mozgó egysejtűektől a több ezer, azonos vagy differenciált sejtből álló telepeken keresztül a szövetszerű növényekhez hasonló szervezetszerű moszatokig terjed. Az algák vegetatív sejtjei a telepet (thalluszt) alkotják, amelyeken nő- és hímivarú szervek jöhetnek létre, biztosítva ezáltal az ivaros szaporodást is. Egyes algák azonban csak ivartalanul szaporodnak. Ennek legáltalánosabb formái a thallusz feldarabolódása, a spóráképzés és a sejtek kettéosztódása.

5.2. táblázat: Az algák főbb csoportjai és jellemzőik

Csoport (Tagozat) neve	Magyarul	Élőhely	Szerveződés	Képvisező	Pigmentek			Tartalmék poliszacharid	Sejtfal
					klorofil	karotinoid	egyéb		
<i>Chlorophyta</i>	Zöldalgák	édesvíz, talaj, tengervíz	egysejtű, telepes	<i>Chlamydomonas</i>	klorofil a és b	β -karotin xantofil	-	cellulóz, mannán, CaCO_3 , hiányzik	
<i>Euglenophyta</i>	Eugléna-félék	édesvíz, tengervíz	egysejtű, ostoros	<i>Euglena</i>	klorofil a és b	β -karotin xantofil	-	paranylon	
<i>Chrysoophyta</i>	Aranybarna és sárgászöld moszatok, Diatomák	édesvíz, tengervíz, talaj	egysejtű	<i>Navicula</i>	klorofil a és c	α és β -karotin, fukoxantin xantofil	-	chrysolaminarin	
<i>Phaeophyta</i>	Barnamoszatok	tengervíz	fonális, levéliszzerű, növényhez hasonló	<i>Laminaria</i>	klorofil a és c	β -karotin, fukoxantin xantofil	-	cellulóz, laminarin	
<i>Rhodophyta</i>	Vörösmoszatok	tengervíz	egysejtű, fonális és levéliszzerű	<i>Polysiphonia</i>	klorofil a	xantofil	fikobilinek, fikocianin	cellulóz, xilán, galaktánok, CaCO_3	
<i>Pyrrhophyta</i>	Dinoflagelláták	édesvíz, tengervíz	ostoros, egysejtű	<i>Gonyaulax</i>	klorofil a és c	β -karotin, fukoxantin	-	cellulóz, vagy hiányzik	

Az algák rendszerezése elsősorban sejtmorfológiai alapon történik, emellett azonban fontos bélyegek a fotoszintetikus pigmentek, a tartaléktápanyagok típusa, valamint sejtfalukban a cellulóz mellett előforduló egyéb összetevők is. Legfontosabb csoportjaikat és jellemzőiket az 5.2 táblázatban mutatjuk be.

A Zöldalgák (*Chlorophyta*) egy nagyon heterogén csoport, esetenként egymástól nagyobb evolúciós távolságban lévő fajokat foglal magába. Közös jellemzőjük, hogy *a* és *b* klorofil-tartalmaznak, tartalék szénhidrátjuk pedig keményítő és furktozán. Valamennyi, az algákra jellemző élőhelyen megtalálható. Az ivaros és ivartalan szaporodás egyaránt jellemző rájuk. Tipikus és egyben tudományos szempontból legismertebb képviselőjük az 5.2 ábrán korábban már megismert *Chlamydomonas reinhardtii*. Ugyancsak jól ismertek a sós és édesvizekben elterjedt *Chlorella* és *Volvox* fajok. A zöldalgák közé tartozik a színanyagát vesztett, kórokozóként ismert *Prototheca moriformis*, amely állatoknál súlyos szepszist, embernél enyhe, szubkután fertőzést okozhat.

Az *Euglena-félék* (*Euglenophyta*) csoportja – hasonlóan az előbb említettekhez – *a* és *b* klorofil-tartalmaz. Tartalék szénhidrátjuk a csak náluk megtalálható *paramylon*. Jellemző képviselőik az *Euglena* nemzetség tagjai. Sejtfaluk nincs, jellegzetes, megnyúlt alakjukat a sejten végigfutó pellicula biztosítja.

A *Chrysophyta* csoportnál többféle jellemző pigment fordul elő, képviselőik az aranylóbarna, a sárgászöld algák, valamint a diatomák (kovamoszatok). A klorofil-leken kívül a barna színt adó *fukoxantint*, valamint különböző karotinokat tartalmaznak. Tartalék tápanyaguk a *chrysolaminarin*. Legtöbbjük egysejtű vagy telepes. A citoplazma-membránt kívülről változatos felépítésű és ornamentikájú sejtfal és/vagy héj borítja. A kovamoszatok héja két, egymásba illeszkedő félből áll (epitéka és hipotéka), amelyben nagy mennyiségű kristályos szilikát található. Szemet gyönyörködtető díszítettségük faji határozó bélyeg. Minden élőhelyen megtalálhatóak, a fitoplankton nagy részét ezek képezik. Egyes rendszertanászok külön csoportba (*Bacilliarophyta*) sorolják őket.

A *Barnamoszatok* (*Phaeophyta*) csoportja olyan soksejtű, telepes szervezeteket foglal magába, amelyek csaknem kivétel nélkül tengerekben fordulnak elő. A legegyszerűbbek fonalas szerveződést mutatnak, míg a fejlettebbeknél a növényi szervekhez hasonló levelek, szárak és rögzítő gyökerek találhatóak. A tengeri hínárok jelentős részét ők alkotják. Sokszor hatalmas területet foglalnak el, mint amilyen a Sargasso tengerben élő *Sargassum* moszat. Barna színanyaguk a már említett *fukoxantin*, tartalék szénhidrátjuk pedig a *laminarin*.

A *Vörösmoszatok* (*Rhodophyta*) csoportja foglalja magába a tengeri hínárok legtöbb fajtát. Néhány egysejtű fajtól eltekintve fonalas vagy soksejtű telepes szervezetek tartoznak ide. Jellegzetes pigmentjeik a vörös színt adó fikobilin és a kék színű fikocianin, amelyek nagy tengeri mélységekben is képesek a napfényt ab-

szorbeálni. Tartalék szénhidrátjuk a csak itt előforduló florideán keményítő. Sejtfaluk mélyebb rétegei szulfatált galaktóz polimereket tartalmaznak, amelyek a mechanikai hatásokkal szemben különösen ellenállóvá és hajlékonyá teszik őket. Ennek kivonásával és tisztításával állítják elő a mikrobiológiai táptalajok szilárdítására használt *agart*, vagy a sejtrögzítésnél alkalmazott *karrageenan*t. Sokszor halmoznak fel a sejtfalukban kalcium-karbonátot, amely a sejtek elhalása után a korálltelepek alapját képezi.

A *Dinoflagellata* (*Pyrrophyta*) csoport egysejtű, az ostoros protozoához hasonló, de fotoszintézisre is képes szervezeteket foglal magába. Többségük a tengeri fitoplankton fontos tagja, de édesvízi fajok is megtalálhatóak közöttük. Fontosak a korállállatokkal és más tengeri gerinctelenekkel szimbiózisban élő fajok, amelyek a fotoszintézissel előállított szénhidrátokkal látják el az állati szervezeteket. Cserébe ezért védelmet kapnak tőlük. Ilyenkor a dinoflagellata sejt elveszti sejtfalát és ostorait, valamint lekerekedik. Több tengeri faj kemilumineszkálásra képes, amelyek éjszaka a tenger felszínén úszó csodálatos világító foltként jelennek meg. Néhány dinoflagellata faj (*Gymnodinium* és *Gonyaulax* spp.) az emberre és a gerinces állatokra mérgező hatású toxint termel. Ezek a környezetszennyezés hatására a meleg-tengeri partoknál egyre gyakrabban fellépő „vörös dagály” nevű vízvirágzást okozzák. A vörös szín a xantofil felhalmozódására vezethető vissza, míg a mérgezésért a *saxitoxin* nevű idegméreg felelős. A toxin felhalmozódik a moszatokat fogyasztó tengeri csigákban, kagylókban, amelyek elfogyasztásával az ember is mérgeződhet. Hatására paralízis (izombénulás) lép fel, amely azonban szerencsére általában nem halálos. A halak is érzékenyek a toxinnal szemben, a vízvirágzást ezért nagyfokú halpusztulás is kíséri. A *Gambierdiscus toxicus* egy veszélyesebb neurotoxint, a *ciguatoxint* termeli, amely a tengeri halakra veszélytelen, azonban húrukban felhalmozódik és így átkerülhet az emberbe is. Hőstabil toxin, főzés közben sem bomlik el. A mérgezés hányással, hasmenéssel, légzésbénulással jár.

5.2.5. A protozoonok országa (*Regnum: Protozoa*)

A protozoonokat állati egysejtűeknek is hívják, ami kifejezi azokat a legfőbb jellemzőiket, hogy nincs sejtfaluk és szerves szénforrást hasznosítanak szén- és energiaforrásként. Nincsenek azonban közvetlen evolúciós kapcsolatban a magasabbrendű állatokkal, de a többi eukarióta mikroorganizmustól is külön ágon fejlődtek. Az algáktól a klorofil hiánya, a valódi gombáktól a mozgás és a sejtfal hiánya, míg a nyálkagombáktól a termőtest hiánya különbözteti meg. A *protozoológia* tudománya foglalkozik velük.

Általában nedves vagy vizes élőhelyeken fordulnak elő nagy számban, édesvízben és tengerben egyaránt. Környezeti szerepük felbecsülhetetlen. A szerves anyagok lebontását végzik talajban, vizekben pedig a planktonikus tápláléklánc fontos tagjai. Számos állati és humán parazita is él közöttük. Táplálkozásuk sajátos, a víz-

ben oldott tápanyagokat pinocitózissal, a szilárd anyagokat fagocitózissal veszik fel. Mozgásuk, mozgásszerveik annyira jellegzetesek, hogy ez képezi rendszerezésük alapját. Az amöboid mozgásúak a *Sarcodina*, az ostorral mozgók a *Mastigophora*, míg a csillóval mozgók a *Ciliophora* csoportot alkotják. Negyedik csoportjuk, az *Apicomplexans* tagjai mozdulatlanok, ezek állati paraziták. Az 5.1. fejezetben megismerhettük sejt szerveződésüket, sejtalkotóikat. Számos olyan morfológiai és élet-tani tulajdonságuk van, ami egyedivé teszi őket, és szemléletesen bizonyítja, hogy milyen sokoldalú és magasán szervezett működésre képes egyetlen eukarióta sejt.

Alapvetően kétféle sejtformájuk ismert, az egyik a vegetatív sejt vagy *trofozoit*, a másik pedig a nyugvó kitarósejt, másnéven *ciszta*. A sejteket nem védi sejtfallal, ennek ellenére a sejtek formagazdagsága sokrétű. Ennek magyarázata, hogy a vegetatív sejtek plazmamembránja alatt egy félfolyékony, kocsonyás réteg, az *ektoplazma* húzódik. Ezen belül található az *endoplazma*, amely a többi eukarióta sejt citoplazmájához hasonló.

Nagyon sok protozoa képes becsitázódni, melynek eredményeként fallal körülvett, ellenálló, lecsökkent metabolikus aktivitású kitaró sejt, a *ciszta* keletkezik. Sok esetben ciszta formában vándorol a parazita a különböző gazdasejtek között. A ciszta lehet ivaros folyamat eredménye is (reproduktív ciszta). Az ivaros szaporodás mellett a legtöbb protozoa ivartalanul is szaporodik, egyszerű kettéosztódással.

A jelenlegi rendszertani felosztás a Protozoonokat 7 tagozatra (phylumra) osztja. Ezek közül a legfontosabbakat, főbb jellemzőiket és tipikus képviselőiket az 5.3 táblázatban mutatjuk be.

Az *Ostorosok (Mastigophora)* a legősibb protozoonokat képviselik. Egyrésztük szaprofita életmódot él, másrésztük pedig, mint humán és állati parazita, súlyos betegségeket vált ki. Utóbbiak közé tartozik az afrikai álomkór okozója, a *Trypanosoma gambiense*. Tulajdonképpen ide sorolhatók azok a fotoszintetizáló ostorosok is, amelyek fény hiányában kemoorganotróf táplálkozást végeznek. Ilyenek az *Euglena-félék*, amelyeket az algáknál már megismertünk.

Az *Amóbák (Sarcodina)* alapvetően kétféle típusú vegetatív sejtet hoznak létre: vagy csupasz, állábakkal mozgó sejtet, mint az *Amoeba* nemzetség tagjai, vagy pedig merev héjjal rendelkező amöboid sejteket, mint a *Foraminifera* fajok. Az *Amoeba* fajok többsége szaprofita, néhány humán és állati parazita is előfordul azonban közöttük, mint amilyen a belekben élősködő *Entamoeba histolytica*. A foraminiférák amöboid sejtjei ellenálló, többnyire CaCO_3 tartalmú díszes héjba húzódnak vissza, csak táplálkozásukor nyúlnak ki belőle. Héjuk nagyon ellenálló, több száz millió évig is megmaradó fosszília. Fontos szerepük van a geológiai kutatásokban.

A *csillósok (Ciliophora)* életciklusuk valamely fázisában csillókkal rendelkeznek. A legismertebb és legelterjedtebb képviselőik a papucsállatkák (*Paramecium* fajok). A táplálékot a sejtáján keresztül veszik fel, amely a garatba, majd az emész-

5.3. táblázat: A protozoonok főbb csoportjai és jellemzőik

Csoport neve		Képviselő	Élőhely	Okozott betegség
Latinul	Magyarul			
<i>Mastigophora</i>	Ostorosok	<i>Trypanosom gambiense</i> <i>Giardia lamblia</i> , <i>Leishmania spp.</i> <i>Trichomonas vaginalis</i>	édesvíz, állati és humán paraziták	álomkór, giardiasis, leishmaniasis trichomoniasis
<i>Euglenoids</i>	Euglena-félék	<i>Euglena gracilis</i>	édesvíz, ritkán tengervíz	nem ismert
<i>Sarcodina</i>	Amóbák	<i>Amoeba spp.</i> <i>Entamoeba histolytica</i> <i>Acanthamoeba</i>	édesvíz, tengervíz, állati és humán paraziták	amóbás hasmenés
<i>Ciliophora</i>	Csillósok	<i>Balantidium coli</i> <i>Paramecium caudatum</i>	édesvíz, tengervíz, állati és humán paraziták, bendő	hasmenés
<i>Apicomplexa</i>	Spórások	<i>Plasmodium vivax</i> <i>Toxoplasma capsulatum</i>	állati és humán paraziták, rovarok	malária, toxoplazmózis

tő üröcskébe kerül. Jellemző sajátosságuk, hogy sejtjeik két különböző sejtmagot, *makronukleuszt* és *mikronukleuszt* tartalmaznak. Előbbi nagyobb, poliploid, és a sejt növekedésével, regenerációjával kapcsolatos működést végzi, míg a második kisebb, diploid és ebben játszódik le a kromoszómák rekombinációja, valamint belőle alakul ki a makronukleusz. Az ivaros folyamat során, párosodáskor a mikronukleuszok kicserélődnek, illetve fuzionálnak. Sok *Paramecium* endoszimbioziszban él baktériumokkal, amelyek vitaminokkal vagy egyéb életfontosságú növekedési faktorkal látják el a gazdasejtet. A csoportra a szaprofita életmód jellemző, bár néhány állati vagy humán parazita is előfordul közöttük. Ilyen pl. a *Balantidium coli*, amely háziállatok élősködője, de embert megfertőzve hasmenést okozhat. Számos obligát anaerob, savasan erjesztő fajuk ismert, amelyek kérődző állatok gyomrában élve fontos szerepet játszanak a nagymolekulájú tápanyagok (pl. cellulóz, keményítő) lebontásában, majd szerves savakká történő erjesztésében.

A *Spórások (Apicomplexa)* csoport sok fajt foglal magába, amelyekre az élősködő életmód jellemző. Sejtjeik is ennek megfelelően fejlődtek: mozdulatlanok és táplálékfelvételük felszívással történik. Mint nevük is mutatja, sejtjeik spórákat hoznak létre. Ezek azonban nem kitaró képletek mint a baktériumok vagy a gombák esetében, hanem a gazdasejtek megfertőzésére képes *sporozoitok*. Számos fajuk gerinces vagy gerinctelen állatokban élősködik, sőt gazdaváltásra is képes. A legfontosabb emberi parazita a maláriát okozó *Plasmodium vivax* és a toxoplazmózis kórokozója, a *Toxoplasma gondii*.

KEVEI FERENC–KUCSERA JUDIT

**6. MIKROORGANIZMUSOK
ENERGIANYERÉSE**



A mikroba sejtek mind szaporodó, mind nyugalmi állapotukban folyamatos energia-ellátást igényelnek. Ez az energia az élet fenntartásához és a sejt építőköveinek bioszintéziséhez szükséges.

Az **autotróf** élőlényeknél energia forrása egyrészt a Nap sugárzó energiája, a **fényenergia**, amelynek hasznosítása a **fotoszintézis** (*fototrófia*), másrészt (ez csak prokarióta mikroorganizmusoknál fordul elő) a szervetlen anyagok eloxidálása révén keletkezett **kemoszintetikus energia** (*kemolitotrófia*). A mikrobák világában tehát a fotoautotrófia mellett kemoautotrófiáról is beszélhetünk.

A **heterotróf** szervezeteknél az energia forrása a külső környezetből származó szerves tápanyag, amelyet a sejtek metabolizmusuk során átalakítanak, lebontanak. Ekkor a szerves vegyületek kötéseiben konzervált energia szabadul fel (*kemoorganotrófia*). A kémiai energianyerést szokás általában kemoszintézisnek nevezni, ez a heterotróf útra nem vonatkoztatható.

A metabolizmusnak kettős feladata van: a sejteket egyrészt prekursorokkal kell ellátnia (a bioszintézisekhez), másrészt energiát kell biztosítania az életfolyamatokhoz. Az autotrófoknál szétválik az energianyerés és a tápanyag felvétele, a heterotrófoknál a szerves tápanyag egyben az energia forrása is. A mikrovilágban azonban viszonylag ritka az, hogy egyes rokonsoportokon belül minden faj obligát módon csak fotoautotróf vagy kemoautotróf (kemolitotróf) életmódot folytat. A tankönyvekben egy-egy energiaszerző folyamattípus szervezeteként feltüntetett baktérium sokszor **mixotróf**, azaz alternatív energiaszerzésre is képes, szerves anyag jelenlétében tudja azt is metabolizálni. Obligát kemoautotrófok a nitrifikáló baktériumok, de a többi kemolitotróf típusú reprezentáló csoportban – fémoxidálók (vasbaktériumok), kénoxidálók, H₂ oxidálók – csak egy-egy nemzetség vagy faj tekinthető kizárólagosan kemolitotrófnak. Ugyanez a helyzet a fotoautotrófok esetében. Obligát fototrófok a *Cyanobacter* csoport fajtái, az anaerob fotoszintetizáló baktériumok között már csak néhány nemzetség, néhány faj tekinthető kizárólagosan fototróf szervezetnek. A mixotrófok közül többen sokkal gyorsabb növekedésre képesek szerves anyag metabolizálás révén.

Az anyagcsere anabolikus folyamatainak többsége az élőlények különböző csoportjaiban (még a különböző fejlettségű szinteken is) jórészt azonosak. Lényegi különbségeket csak néhány bioszintézis útban, a baktériumok egyes csoportjainál, illetve baktériumok és eukarióta szervezetek között találunk. A mikroorganizmusok esetében a katabolikus folyamatok mutatnak rendkívül nagy változatosságot, ezért e fejezetben elsősorban ezekre a kérdésekre összpontosítunk.

6.1. Mikroorganizmusok tápanyagigénye

A mikroszervezetek tápanyagigénye rendkívül változatos, ez következménye az élőzökben vázolt eltérő energiaszerzési lehetőségüknek, illetve anyagcseretípusuknak.

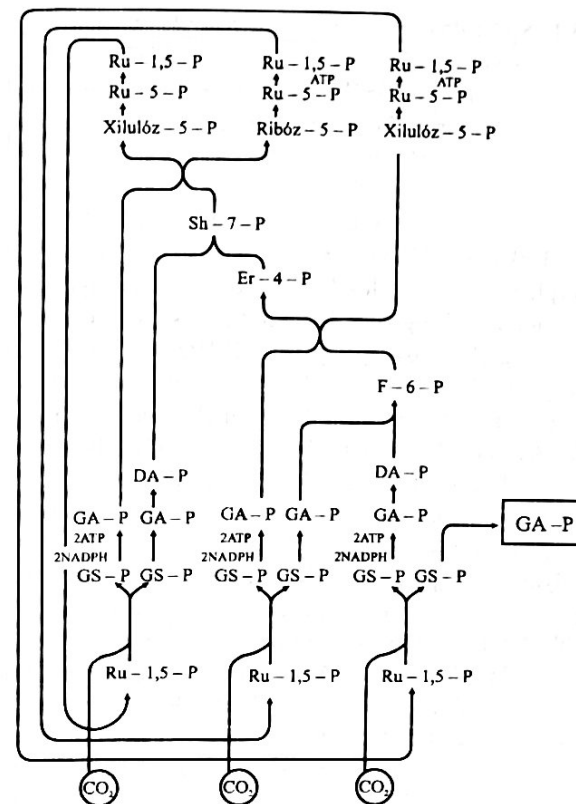
A tápanyagigény biztosítása laboratóriumi körülmények között táptalajok, tápoldatok formájában történik. Az autotróf mikrobáknak CO_2 -t és energiaforrást (fény vagy kémiai energia formájában) is kell biztosítani. A heterotróf organizmusok számára a metabolizálható szénvegyület a táplálék és egyben az energia forrása is. A táptalajok a sokféle igény biztosítása mellett alapvetően az alábbi nélkülözhetetlen anyagféléket kell, hogy tartalmazzák: a szénforrások, a nitrogénforrások, ásványi anyagok, a víz és esetenként a vitaminok.

6.1.1. A víz nem csak ökológiai tényező, hanem az energianyerő folyamatokban ténylegesen részt vevő egyik alapvegyület, pl. a fotoszintetikus folyamatokban, a kemoszintézis során a víz a H-donor. Az **ásványi anyagok** közül a legfontosabbak a P, S, Cl anionos formában, oldva, a K, Ca, Na, Mg, Mn is ionos formában, továbbá egyéb mikroelemek, melyek szintén vízben oldottan kerülnek felvételre.

6.1.2. Szénforrást, a legegyszerűbb formában CO_2 -ként, az autotrófok a levegőből szerzik és a Calvin-ciklusban hasznosítják ezt a molekulát (6.1. ábra). A Calvin-ciklust fototróf eukariótákban, algákban ismerték fel, magának a folyamatnak kémiai lépései úgy tűnik univerzálisak, általában az autotróf életmódhoz kötöttek. Az obligát kemolitotróf prokariótáknál is ez az egyetlen szénfelvételi lehetőség. A rendszer számára szükséges energia eredete teszi sokszínűvé a CO_2 -t asszimiláló rendszert. A szén-dioxid közvetlen hasznosításának, felvételének és beépítésének néhány speciális példájával találkozunk a mikroorganizmusok világában. Ezek a példák azonban az egyébként heterotróf táplálkozású és anyagcseréjű szervezeteknek egy alternatív szénfelvételi lehetőségét jelentik, ahol a felvett szén-dioxid általában szerves anyagcsere intermedierekkel kondenzálódik.

A heterotróf szervezetek számára a **szénhidrátok** jelentik a legnyilvánvalóbb szénforrást. Ezek lehetnek mono-, oligo- és poliszacharidok (pl. keményítő, cellulóz). A különböző szénhidrátok lebomlás, átalakulás (pl. izomerizáció) után hexóz (első sorban glükóz), ritkábban pentóz formában lépnek be a katabolikus folyamatokba.

Egyedüli szénforrásként hasznosíthatnak a heterotróf mikrobák rövid vagy hosszú szénláncú **szénhidrogéneket**, különféle **alkoholokat** és **szerves savakat**. Extrém esetekben illékony észterek, éterek szolgálhatnak tápanyagul (pl. a *Cladosporium cellerae*, nemes penész, a bor illékony anyagait hasznosíthatja egyedüli szénforrásként). A poliszacharidok mellett további **más makromolekuláris szénforrások**, mint pl. lignin, keratin, pektin bontástermékei hasznosulnak olyan mikrobák esetén, amelyek képesek a polimereket enzimatikusan hidrolizálni. A szénforrás-hasznosítás fontos gyakorlati kérdéseket vet fel: pl. az egysejt protein (SCP) termeltetést (hulladék szénforráson, vagy olcsó, „tisztá” szénforrásokon pl. metanolon való biomassza-termeltetés), másrészt extrém, toxikus szénforrások mikroorganizmusokkal történő lebontásának, metabolizálásának lehetőségét. A detoxikálás nem jelent okvetlenül metabolizmust, lehet, hogy a mikroszervezetek egyszerűen



6.1. ábra: Calvin-ciklus az autotrófok szénfelvételi lehetősége

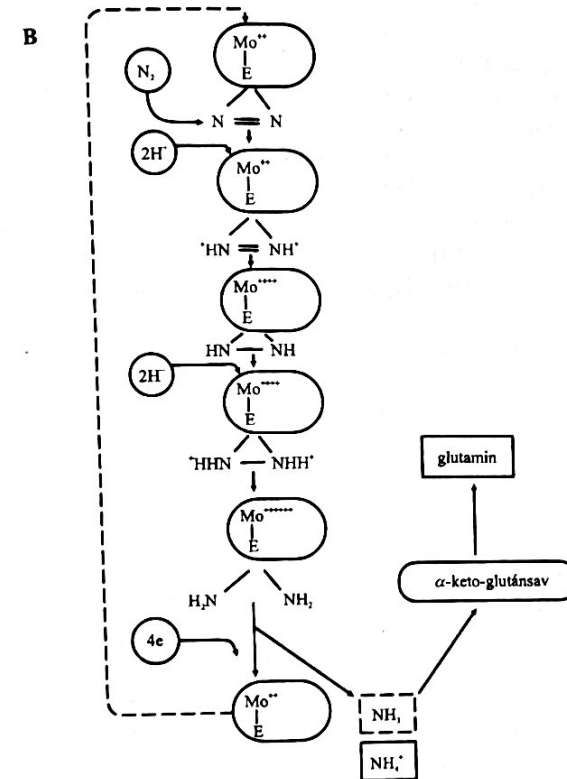
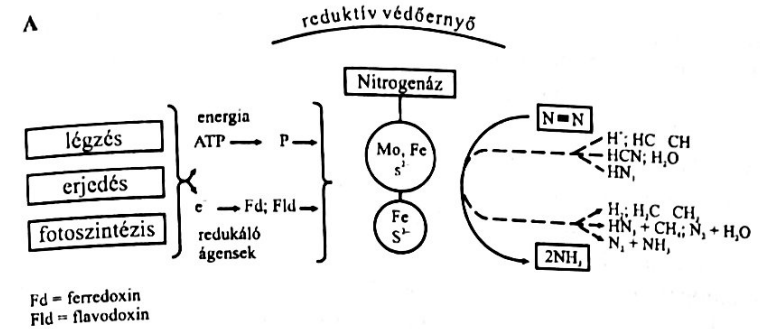
Ru-5-P: ribulóz-5-P, Ru-1,5-P: ribulóz 1,5-di-P, Sh-7-P: szedoheptulóz-7-P, Er-4-P: eritroz-4-P, F-6-P: fruktóz-6-P, GA-P: glicerinaldehid-P, GS-P: glicerinsav-P, DA-P: dioxiaceton-P

biotranszformáció révén nem toxikus származékká alakítanak egy alapján mérgező szerves vegyületet. Egyes mikroorganizmusok képesek a műanyagok bontására, olyan kötéstípusokat is hidrolizálnak, amellyel evolúciójuk során korábban nem találkozhattak.

6.1.3. Nitrogénforrásként a mikroszervezetek különböző eredetű nitrogéntartalmú vegyületeket használhatnak fel. A prokarióták egy része hasznosíthat **légköri molekuláris N_2 -t**, kielégítheti nitrogénszükségletét nitrátokból, közvetlenül ammóniumsókából, továbbá szerves nitrogéntartalmú vegyületekből (pl. aminosavak, nukleinsav bázisok).

6.1.3.1. N_2 -fixálás (nitrogénkötés), kizárólag prokariótákra jellemző folyamat. A baktériumok vagy szabadon, vagy (növényekkel) szimbiózisban képesek a légköri molekuláris nitrogén fixálására. A szabadon élő nitrogénkötők lehetnek anaerobok, mint az anaerob fotoszintetizálók (pl. bíborbaktériumok), vagy a G(+) *Clostridium* fajok, vagy lehetnek aerobok, mint a *Cyanobacter* fajok, az *Azotobacter* nemzetség tagjai. A nitrogénfixálás tanulmányozásának kitűnő modellszervezete a *Klebsiella pneumoniae*, fakultatív anaerob baktérium. A nitrogénkötésre képes baktériumok a legkülönbözőbb taxonómiai csoportokban előfordulnak, így az *Archaeak* között is (pl. a metántermelők képesek a légköri nitrogénből fedezni szükségletüket). A szimbiota nitrogénfixálók, mint pl. a közöttük legismertebb *Rhizobium* fajok, csak a megfelelő növényi „gazdával” létesített szimbiota kapcsolatban képesek a nitrogénkötésre, szabadon élve nem, vagy csak rendkívül kis mennyiséget. A *Rhizobium* fajok esetében a specifikus szimbiota partner egy-egy pillangósvirágú növényfaj. A cianobaktérium *Anabaena azollae* vízi páfránnyal (*Azolla*) létesít szimbiózist, egyes *Frankia* fajok, a bokros, fás növényeken (pl. *Alnus*, *Eleagnus*) képesek a szimbiota kapcsolat kialakítására. A szimbiózis általában a növényi gyökereken létrejövő gümőképzésben nyilvánul meg. A nitrogénfixáló baktériumok között vannak olyan fajok (pl. *Azospirillum* nemzetség tagjai), amelyek szabadon is és a növényvel asszociációban is képesek nitrogénkötésre, utóbbi esetben a fixálás hatékonyabb. Ez a szimbiózis azonban laza, nem tekinthető a *Rhizobium* endoszimbiózisával analóg esetnek. Vannak olyan szabadon fixálók, amelyek specifikus növények rhizoszféra zónájában végzik nagy hatékonysággal a nitrogénkötést anélkül, hogy bármilyen tényleges fizikai kapcsolat kialakulna a két élőlény között. A nitrogénfixáló prokarióták tevékenysége a természetben nélkülözhetetlen fontosságú. Különösen a szimbiózisban élők kötnek meg jelentős tömegű nitrogént (100–300 kg/hektár egy vegetációs periódus alatt), míg a szabadon élők hozama ennél jóval alacsonyabb (1–3 kg/ha).

A nitrogénfixálás egy **nitrogenáz** nevű enzim tevékenysége révén valósul meg. Ez az enzim egy összetett fehérje, általában kétféle egységből áll (6.2.a. ábra). Az egyik alegység a molibdéntartalmú Mo-Fe-S-fehérje, a másik Fe-S-fehérje komplex. Erős redukzív körülmények között kötődik a molekuláris nitrogén a molibdén proszteritikus csoportot tartalmazó alegységen, majd több lépéses redukciós folyamat végén ammónia (ammónium ion) formájában hasznosul a szervezet számára (6.2.b. ábra), mégpedig úgy, hogy keto-savakra ráépül, így aminosavak keletkeznek. A vas-tartalmú enzimegység biztosítja a redukcióhoz szükséges háteret úgy, hogy a szervezet energianyerő folyamataiban keletkezett redukált piridinnukleotidok közvetítésével a rendszert állandó elektronelvonásra képes állapotban tartja. A nitrogénfixálás rendkívül érzékeny az oxigén jelenlétére, az obligát aerob baktériumok nitrogénkötéséhez szükséges háteret, az alacsony redoxpotenciált egy ún. „redukatív



6.2. ábra: A: A nitrogenáz enzim felépítése és működésének vázlatja; B: A nitrogénkötés folyamata

védőernyő” (egy enzimszisztéma) biztosítja. Az aerob *Rhizobium*ok, a fakultatív *Klebsiella* fajok oxigén jelenlétében ezért nem tudnak nitrogént fixálni, aerob miliódban csak olyan táptalajon képesek szaporodni, amelyből a nitrogénszükségletüket vegyületeiből kötötten tudják felvenni. A nitrogénfixálás erőteljes energiafogyasztó folyamat (30 mol ATP energiája szükséges 1 mol N₂-fixáláshoz). A redukáló kapacitást redukált nukleotidok (NADPH₂) biztosítják, ferredoxin, illetve flavodoxin rendszeren keresztül. A nitrogénáz nem csak a molekuláris nitrogént képes redukálni, hanem az acetilént, azidot, dinitrogén-oxidot, cianidot, nitritet, izonitritet és protont (H⁺) is.

A nitrogénfixálás csak akkor folyik, amikor egyéb hasznosítható nitrogénforrás nincs jelen. Az ammóniumion jelenléte a nitrogénáz-termelés teljes repressziójához vezet. A glutamin-szintetáz a nitrogénfixálás szempontjából szintén fontos szabályzó kulcsenzim. A glutamát-szintetázal együtt képesek alacsony ammóniumszint mellett biztosítani a szervezet nitrogén-ellátását (ráépítik szerves anyagokra a redukált nitrogénforrást). Amikor a sejtek által felvett szerves eredetű nitrogén (ammónium) mennyisége egy kritikus szintre emelkedik, lecsökken a glutamin- és glutamát-szintetáz termelése, ekkor a nitrogénáz enzim szintézise is teljes gátlást szenved. A nitrogénáz enzim génjei (*nif* géncsalád) kluszerbe rendezettek, a *Rhizobium*okban plazmidon kódoltak.

A nitrogénfixálás végső nyeresége az, hogy a nitrogén, redukált köztes alakján (NH₃) keresztül, amino (-NH₂) csoportok formájában közvetlen ketosavakra köt (ketosavak redukív aminálása), így végső soron aminosavak formájában konzerválódik a levegő nitrogénje.

A nitrogénkötés szempontjából a szimbiota mikroorganizmusoknak egy másik fontos géncsaládjuk a **nodulációt** (gümőképzés) elősegítő gének csoportja. A növények specifikus szekunder metabolitokat (flavonoidok, betaine) szekretálnak, amelyeket a *Rhizobium*ok jelmolekulaként fognak fel és a baktérium **NodD** transzkripció aktivátorát hozzák működésbe. A transzkripció faktor hatására a *nod* gének működésbe lépnek és a gümőképződést indukáló jelmolekulák (**Nod faktor**) szintézise megindul.

A Nod faktor hatására a baktériumok a gyökérszőrökön keresztül a növényt mintegy „megfertőzve” a kéregsejtekbe (*cortex*) jutnak. A gyökér szőrsejtjeiben szaporodva egy „sejtláncolatot” alkotnak, így érik el a gyökér kéregsejtjeit, ahol itt gümőiniciálisok (*primordiumok*) jönnek létre. Ez a bakteriális tevékenység a növényekben morfogenetikus változások sorát indítja el. A baktériumok által „fertőzött sejtekben” növekedési hormonok indukálódnak a baktériumokat tartalmazó, már állandósult növényi sejtek ismét szaporodni kezdenek. Az új szaporodó növényi sejtekben a baktériumok tovább szaporodnak, így jönnek létre a pillangósok gyökerén a makroszkóposan is jól látható gyökérgümők. A növényi sejteken belül szaporodó, eredendően obligát aerob *Rhizobium* sejt alakja, növekedési tulajdonsága

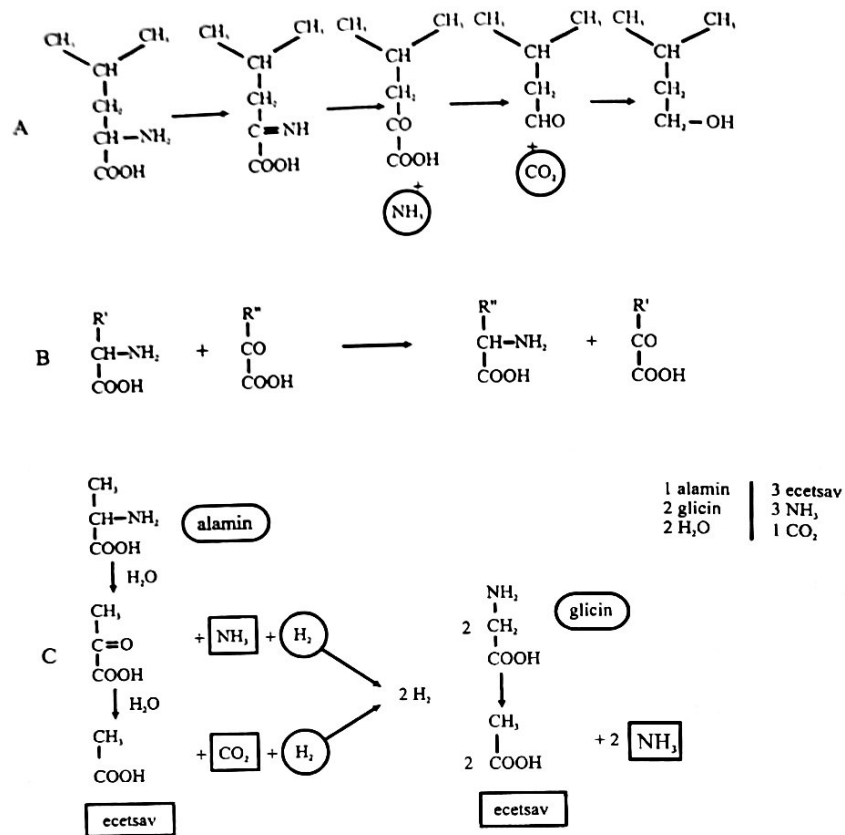
megváltozik, tömege a szabadon élő baktériumhoz képest többszörösére nő. Létrejön a nitrogénfixálást nagy hatékonysággal végző, ún. **bakteroid** sejtalak. Amikor a nitrogénfixálás megindul, a gümőkben lévő baktériumok egy rózsaszínű pigmentet képeznek. A működő gyökérgümők mindig színesek. Ennek az az oka, hogy a baktériumok ebben a kölcsönhatásban egy, a hemoglobinhoz hasonló anyag, a **leghemoglobin** szintézisére, képesek, úgy, hogy a proto-hem váz szintézisét a *bakteroid* állapotú baktériumok végzik, a növény citoplazmájában kapcsolódik rá a növény által szintetizált globuláris fehérjére. A leghemoglobin egy valódi szimbiotikus termék. Lebomlása a nitrogénfixálás végét jelenti azokban a sejtekben, ahol a bomlástermék, a zöld színű biliverdin megjelenik. A leghemoglobinnak valószínű az a szerepe, hogy az obligát aerob *Rhizobium*ok számára oxigént biztosít, így azok megfelelő energiához tudnak jutni, ugyanakkor a gümőkben a N₂-fixálás redukív körülményei biztosítottak, hisz az oxigén parciális nyomása mélyen alatta van az aerob követelményeknek.

6.1.3.2. Szervetlen N-forrás lehet nitrát, amelynek nitrogénje az „asszimilációs nitrátredukció” következményeként aminosavakba épül be. Az **ammónium só** hasznosulás közvetlenebb, a beépülés előtt nincs szükség a fenti energiaigényes redukációs lépéssorozatra, az ammónium nitrogénje a ketosavak redukív aminálásával épül be és alakítja a szerves savat aminosavvá.



Az asszimilációs nitrátredukció egy energiafelhasználó nitrogéntáplálkozási reakció, nem keverendő össze a reakció kémiai lépéseiben nagyon hasonló **denitrifikálással** mint kemolitotróf energiányerő folyamattal, vagy a **nitrátléggzéssel**, ami egy heterotróf lebontási folyamatot követő terminális oxidáció rövidre zárását jelenti, ugyanis a citokrómozim oxidáz elégtelen működése miatt a nitrát oxigénjével történik meg a redukált NAD-molekulák hidrogénjeinek oxidációja.

6.1.3.3. Szerves N-források elsősorban az **aminosavak**. Ezek hasznosulása különböző módon történhet. A legegyszerűbb eset az, amikor egy aminosavat egy mikroorganizmus a felvételt követően **változtatás nélkül** építi be fehérjébe (pl. aminosav auxotrófok). Másik aminosav-hasznosítási típus a **transzaminálás**, ekkor a hasznosuló aminosav aminosoportja átkerül egy szerves savra, ami így aminosavvá válik, míg az aminosoportját veszített donormolekula szerves savvá alakul. Az aminosav nitrogénje hasznosulhat **deaminálódással**, miközben a molekula még **dekarboxilálódik** és így rövidebb szénláncú alkohollal keletkezhet. Ezt a folyamatot leírójáról Ehrlich-féle mechanizmusnak nevezik.



6.3. ábra: Szerves nitrogénforrások hasznosítása:

A: dezaminálódás, dekarboxilálódás; B: transzaminálás; C: Stickland-reakció

Az aminosavak nitrogénforrásként való hasznosításának jellegzetes mikrobiológiai példája a **Stickland-reakció**. Két különböző aminosav-molekula oxidoredukciós kölcsönhatása révén a szervezet számára hasznosítható redukált nitrogén szabadul fel, továbbá ecetsav és szén-dioxid keletkezik.

6.1.3.4. A vitaminok iránti igény sokféle lehet: leggyakrabban aneurint, riboflavint, biotint, piridoxint, niacint, pantoténsavat, inozitot használnak. A vitaminigény ritkán jelent auxotrófiát a természetes izolátumok esetében (bár mind vitamin, mind aminosav auxotrófia ismert a természetben is), jelenlétük azonban rendkívül fontos a mikroorganizmusok gyorsabb növekedése, nagyobb produktív hozama szempontjából.

6.2. Mikrobiális energianyerő folyamatok

Az anyagcsere-folyamatok tárgyalása bevezetésként az alapvető energiaszerző folyamatokat az energia eredete alapján osztályoztuk és így autotróf, valamint heterotróf energiaszerzést, illetve anyaghasznosítást különítettünk el.

6.2.1. Autotróf energianyerés, anyaghasznosítás

Autotróf energianyerés a szerves anyagok metabolizmusa nélküli külső energiaforrás felhasználására alapoz. Két válfaját ismerjük, a **fototrófiát** és a **kemolitotrófiát**. Az autotróf energianyerést általában a magasabbrendű növények aerob közegű fotoszintetikus energianyerésével azonosítják. A prokarióták körében ezen túl ismert a kemoszintetikus autotróf energianyerés, amelyet kemolitotróf folyamatoknak nevezünk (*lithos* = kő, azaz szervesetlen anyag). A prokarióták körében a fototróf energianyerés különböző evolúciós szintjeivel találkozhatunk, az alábbiakban elsősorban ezek bemutatására helyezzük a fő hangsúlyt, nem részletezve magának az energianyerésnek részfolyamatait.

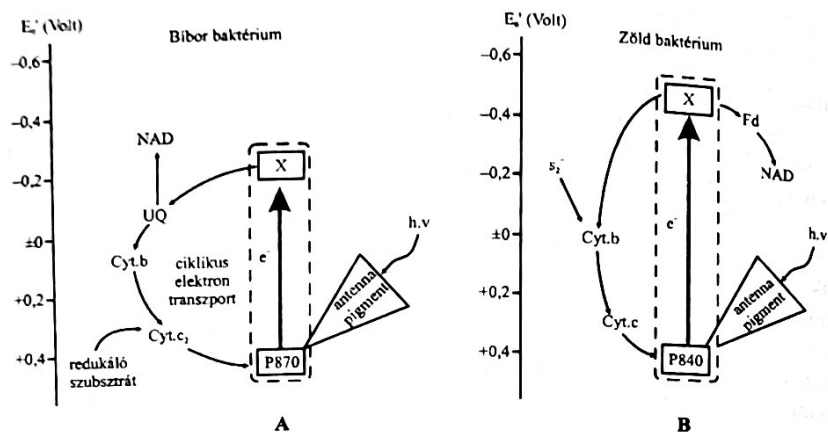
6.2.1.1. A mikroorganizmusok fényenergia-hasznosítása

Az autotróf energianyerés egy lehetséges változata a fényenergia hasznosítása. A magasabbrendű növényekben folyó fotoszintézis az evolúció alsóbb lépcsőjénél megjelent már. Az eukarióta algák előtt már a prokarióta *Cyanobacterium*ok körében lényegében kialakult az az energiakonzerválási típus – két fotorendszer, aciklikus foszforiláció, víz mint hidrogéndonor, ebből eredően oxigéntermelés aerob milió biztosítása – mint ami a magasabbrendűeket is jellemzi. A prokarióták körében egyszerűbb, ezt az evolúciós szintet megelőző fényenergiahasznosítási lehetőségeket is megismerhetünk.

A *Halobacterium* fényenergia-hasznosítása:

Az *Archae*akhoz tartozó sókedvelő baktériumok membránjában található **bakteriopurpurin** vagy **rodopszin** (kémiaiilag teljesen azonos felépítésű a szem látóbíborával, retinál típusú színanyag), fény hatására aktiválódó pigment. A molekula a membránon átnyúlva, fotoaktiváció következtében H⁺ ionokat képes a sejt belsejéből a membránon át a külső közegbe juttatni. Ez a folyamat a külső közeg savasodásához, a belső lúgosodásához vezet, ami potenciálkülönbséget eredményez. Az energiaszintkülönbség kiegyenlítése ATPáz segítségével történik. Ez az enzimmolekula szintén transzmembrán fehérje, protonvisszaáramlás hatására a potenciálkülönbség kiegyenlítődik, közben ADP-ből ATP keletkezik (6.4.a. ábra).

elektron valószínűleg a ciklikus elektrontranszportból származik. Az elektrontranszport vele ellentétes irányú protongrádiens eredményez, ez pedig az ATP szintézisé során egyenlítődik ki (lásd 6.5. ábra).



6.5. ábra: Fényreakció az A: bibor baktériumoknál; B: zöld baktériumok esetében

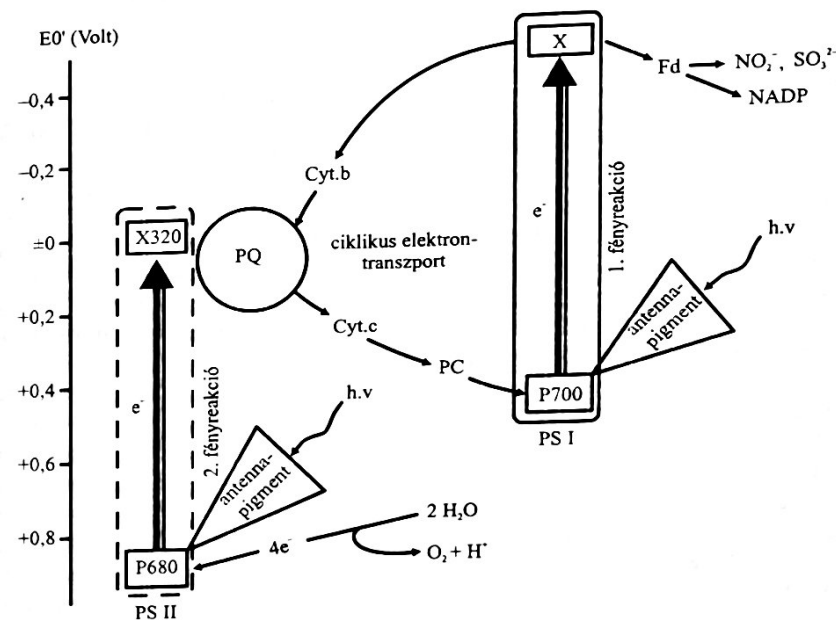
Fényreakció a zöld baktériumoknál

Az előzőekhez képest eltérés az, hogy a reakciócentrum P840 jelzésű elektrondonor részt tartalmaz (rövidül a gerjedési hullámhossz). Az elsődleges elektronakceptoron a fényindukciót követően erős -500mV potenciálkülönbség jelentkezik. Ez már elegendő energiát biztosít a ferredoxinon keresztül közvetlen elektronleadással a NAD-redukcióhoz is (lényegében eléri az aerob *Cyanobacterium*ok első fényreakciója során keletkezett energiaszintet). A zöld baktériumok ennek megfelelően lényegében függetleníteni tudják ezt a rendszerüket az energiakeletkezés irányával ellentétes irányú elektrontranszporttól, azaz esetükben a foszforiláció ciklikus, de az elektrontranszport már nem teljesen az (6.5.b. ábra). Ezzel átmenetet képeznek a két fotorendszerrel bíró aerob szervezetek irányába (lásd 6.6. ábra). A zöld baktériumok anaerob jellegüknek megfelelően a NAD-redukcióhoz hidrogéndonorként, a bibor baktériumokhoz hasonlóan kénhidrogént, vagy redukált szerves vegyületeket használnak.

Aerob prokarióta (*Cyanobacterium*) fényenergia hasznosítása

Az algákkal, magasabbrendű növényekkel egyezően aerob közegben két fényreakció játszódik le. A két fotorendszer gerjesztési hullámhossza alapján: I. fényreakciócentrum pigmentrendszer: P700, II. fényreakciócentrum pigment-

rendszere: P680 jelzésű. Az I. fotorendszerben a gerjesztett klorofill elektront ad le, ennek az elektronhiánynak kell kiegyenlítődnie, de ez nem egy ciklusban történik. Az elektron akceptor Fe-S protein magas negatív redoxpotenciált eredményez (-420 – -530mV -ig), ez ferredoxinon keresztül NAD-redukcióra képes. A gerjesztett klorofill elektron hiányának kiegyenlítődése a II. fényreakciócentrumának gerjedése közben keletkezett elektronfelesleggel történik (ekkor játszódik le a víz fotolízise). A kapcsolat az I. és II. fotorendszer között az elektronátadásban van; az elektronáramlás a membránok két oldala között egy protongrádiens mentén történik (ciklikus elektrontranszport, eredménye az ciklikus foszforiláció; lásd 6. ábra). A víz bomlása révén keletkező hidrogén használódik el a NAD redukcióhoz, miközben O_2 szabadul fel, ez a folyamat eredményezi az oxigénes légkör kialakulását.



6.6. ábra: A *Cyanobacterium*ok két fotorendszerrel történő fényenergia-hasznosítása

6.2.1.2. Kemolitotróf energianyerés

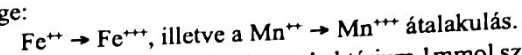
A kemoautotróf folyamatok lényege az, hogy valamely szervetlen anyag (vegyület, elemi fém, vagy molekuláris H_2) oxidációja biztosítja egyes prokarióta szervezetek számára a működésükhöz szükséges energiát. Ezt az energiát használják az autotrófok egyetlen szénforrásának, a szén-dioxidnak az asszimilációjához. A Calvin-ciklust általában a fotoszintézissel kapcsolatosan tanítják, ismertetik, pedig nem kizárólag a fényenergia-hasznosítással, hanem az autotróf életmóddal kapcsolható össze. Miután a CO_2 szerves vegyületekbe történő konverziója jelentős energiát igényel, a kemolitotróf szervezetek hatalmas tömegű „oxidált végterméket” halmoznak fel energiatermelésük során. Ezeket az anyagokat beépíthetik tokjukba, sajátos képleteket (cső, szalag pl. a vaskbaktériumoknál) hozhatnak létre, felhalmozhatják belső zárványokként (pl. kénbaktériumok), vagy kiválaszthatják a külső közegbe, ezáltal nagy tömegű, biogén eredetű szervetlen anyagfeldúsulást eredményezhetnek. A kemolitotróf folyamatokat négy fő típusra oszthatjuk.

Nitrifikáció, nitrifikáló baktériumok:

A kemolitotróf baktériumoknak azt a csoportját reprezentálják, amely kizárólagosan csak szervetlen anyagoxidálás révén szerez energiát, azaz **obligát kemolitotróf**. A nitrifikáló baktériumok laboratóriumi körülmények között a szokványos táptalajon nem tenyészhetők. Sajátos, zárt csoport, egyetlen rendszertani egységbe foglalták őket. Az alapreakció, ami mentén az energiát nyerik: $NH_3 \rightarrow HNO_3$ átalakulás. A folyamat két részreakcióra különíthető el; egy-egy részreakciót külön mikroorganizmuscsoportok képesek végigvinni. Először az $NH_4OH \rightarrow HNO_2$ oxidáció megy végbe az ammóniaoxidálók, azaz a *Nitrosomonas* fajok által, majd a nitritoxidálók, a *Nitrobacter* nemzetség a további oxidációs lépést végzi el $HNO_2 \rightarrow HNO_3$. A két, példaként említett nemzetségen kívül más génuszokba tartozó fajok is folytatják ezt a megosztott tevékenységet. A folyamat egyik lehetséges eredménye a salétrom (KNO_3), madártrágyából keletkeztek a nagy (guano) salétromtelepek. Az alföldi területeken régebben a talaj felszínén megjelenő ún. „kivirágzó” salétromot „salétrom szérükön” gyűjtötték (a kálsalétromot löpörgyártáshoz használták). A nitrifikáció a termőtalajok növények által felvehető, nitrogénháztartása szempontjából hasznos. A folyamat aerob közegben zajlik, ezért a nitrifikációnak kedveznek azok az agrotechnikai műveletek, amelyekkel a talaj felszíni részének jó levegőellátottsága biztosítható. A túl magas nitrátszint káros, pl. az elcsorgó folyékony trágya erősen szennyezi a talajvizet. Ez lehet az oka az ásott kutakban az ún. nitrátos vizek megjelenésének, amely emberi fogyasztásra alkalmatlan, és különösen csecsemőkorbán okozhat súlyos mérgezéseket.

Kétértékű fémek oxidálása, vaskbaktériumok

A csoportba tartozó baktériumok energianyerésének alapja az, hogy az alacsonyabb oxidációs értékű fémek oxidáltabb állapotba kerülnek. Nem kizárólag a vas oxidálása révén szerezhetnek energiát, hasonló eredményt ad a mangán oxidálása is. A folyamat lényege:



50 mmol vas eloxidálódása révén képes a baktérium 1 mmol szén-dioxidot hasznosítani. Ezért ezek a baktériumok hatalmas tömegű fémoxidot, hidroxidot képesek felhalmozni (egyes vas- és mangánérclelőhelyek biogén eredete bizonyított). A rendszertanilag kemolitotróf fémoxidálókon kívül különféle baktériumcsoportba tartozó fajok, nemzetségek képesek a vas, vagy a mangán oxidálására, pl. a *Gallionella* (függelékesek) szalag alakú vastartalmú függelékét választ ki, a *Sphaerotilus* (hüvelyesek) pedig csőszerű hüvelyt képez maga körül az oxidált vas tömegéből). A *Thiobacillus ferrooxidans* obligát kemolitotróf (a génusz nem minden tagja az), a kénoxidáció mellett képes vasoxidáció révén is energianyerésre. Nemzetségének többi faja tipikus kénoxidáló.

Kénhidrogén oxidációja, kénbaktériumok

A különböző eredetű (szervetlen, biogén) kénhidrogént elemi kénre, majd egyes baktériumok egészen kénsavvá tudják oxidálni. Ez az energianyerési mód, ami mint alternatív lehetőség az egyébként heterotróf baktériumok széles körében is ismert. Különösen az időlegesen árasztott területeken, sekély vizekben fordulnak elő olyan prokarióta mikroszervezetek, amelyek képesek a vizekben zajló mikrobiológiai folyamatok eredményeként keletkezett, toxikus kénhidrogént eloxidálni. Ilyenek a különböző rendszertani egységekhez sorolt *Spirillum*, *Thiothrix* és *Beggiatoa* fajok. Az obligát kénhidrogén-felhasználók száma tulajdonképpen kevés, ilyen a *Thiobacillus* nemzetség néhány tagja, pl. a *T. thiooxidans*, vagy a fentiekben említett *T. ferrooxidans*. A kénoxidáló baktériumok egy csoportja a H_2S -t kénig oxidálja, képes kéntelepek létrehozására. A kén felhalmozódhat a tokanyagban, vagy a sejten belüli zárványokban (kénfelhalmozással a fotoszintetizáló bíbor és zöld baktériumok között is találkozunk). A kénbaktériumok másik jelentős csoportja a kénsavig oxidálja a redukált kénvegyületeket vagy az elemi ként.



Ezek a baktériumok extrém alacsony savas pH-t eredményeznek (pH=1–2), ők maguk képesek ezt a savas környezetet tolerálni. A keletkező kénsav a talaj elemkörülforgalmát jelentősen befolyásolja, kilúgozódást okozhat, sajátos összetételű talajokban különböző, nem kedvező folyamatok kiindulópontjául szolgálhat, pl. szikesedésben játszhat szerepet.

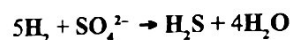
A molekuláris hidrogén oxidációja:

Attól függően, hogy a H_2 oxidációjához szükséges oxigén honnan származik (mi az oxigéndonor), ezt az energianyerési típust további alcsoportokra oszthatjuk.

1.) A légköri O_2 mint hidrogénakceptor, „durranógáz” baktériumok: a folyamat aerob, jól levegőzött felszíni vizekben zajlik. A baktériumok elnevezése onnan származik, hogy a molekuláris H_2 és O_2 egyesülés előtti elegyét nevezzük durranógáznak, ezek a baktériumok energiájukat e két anyag reakciójából nyerik. A csoportnak ismert képviselői a *Hydrogenobacter* fajok.

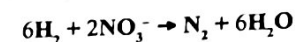
A további H_2 -oxidálók külön rendszertani csoportokba tartoznak, az esetek többségében mixotróf karakterűek, közöttük obligát- vagy fakultatív anaerobokat találunk, de obligát aerob szervezeteket nem.

2.) Szulfát felhasználása hidrogénakceptorként, szulfátredukálók: a folyamat obligát anaerob. Mivel ebbe a csoportba tartozó mikrobáknál az energia a légzés lényegéneként megfogalmazott folyamatból – a hidrogén oxigénnel való egyesülése – származik, és mindez anaerob közegben játszódik le, e folyamatokat anaerob légzésnek nevezzük. Ennek során a levegőtől elzárt környezetben (pl. ársztásos területen, rizstermesztő területek, halastavak, rosszul levegőzött talajok), a jelenlévő szulfát oxigénje biztosítja a molekuláris hidrogén eloxidálását.



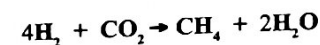
A H_2 többféle biológiai (mikrobiológiai) úton termelődik. A talajban azonban elektrokémiai úton is jelentős mennyiségű H_2 keletkezhet. Létrejöttét éppen a szulfát-redukció „szívó” hatásával magyarázhatjuk. A talaj víztartalma disszociált állapotban (H^+ és OH^-) ionok formájában van jelen. A fémek felületéről (pl. vas esetében Fe^{++}) ionok válnak le a disszociált közegbe elektronleadás közben. A hidrogénion elektronfelvétel után molekuláris állapotba kerül, ez oxidálódik el a szulfát oxigénjével, miközben toxikus H_2S keletkezik. A kénhidrogén a fémionokkal szulfidokat (pl. FeS) hoz létre, ez pedig további Fe^{++} ionok leválását teszi lehetővé. A kénhidrogén igen gyorsan ölt mérgező gáz (irreverzibilisen a hemoglobinra kötődik), halastavakban halpusztulást okoz, rizsföldeken a rizsbetegségek primer okozója a gyökérlégzés gátlása miatt. Egyik legismertebb szulfátredukáló baktérium az obligát anaerob *Desulfovibrio desulfuricans*, rendszertanilag a disszimilációs szulfátredukálók csoportját reprezentálja. Szulfátredukciót más csoportok is folytatnak, pl. az *Archea* csoportban az *Archaeoglobus*, *Desulfurococcus* fajok, de mixotrófok lévén a hidrogéndonor lehet alacsony szénatomszámú szerves anyag és csak az akceptor szerepét tölti be a szulfát, így a végtermék esetükben is a toxikus kénhidrogén.

3.) Nitrát mint hidrogénakceptor, nitrátredukció: analóg jelenség a szulfát-redukcióval. A folyamat a talaj nitráttartalmának elvesztésével jár, ezért nevezik a nitrifikálás ellentétéleként denitrifikálásnak. Az energiatermelő kémiai reakció:



A nitrátredukció nem obligát anaerob folyamat, szemben a szulfátredukcióval. Itt molekuláris nitrogén a végtermék, nem pedig a toxikus ammónia. Az egyik legismertebb denitrifikáló szervezet, a *Paracoccus denitrificans* aerob baktérium.

4.) Szén-dioxid, (szén-monoxid), egyéb oxidált szénvegyület mint hidrogénakceptor, metántermelők: ezt az energiaszerzési lehetőséget az *Archaea* divízióba sorolt néhány baktériumcsoportnál ismerték fel. Filogenetikailag különböző eredetűek ezek az ún. metanogén baktériumok. A *Methanobacteriales* rendbe tartozó fajok obligát anaerobok, CO , CO_2 mellett hangyasav lehet a molekuláris hidrogén fajok obligát anaerobok, CO , CO_2 mellett hangyasav lehet a molekuláris hidrogén szubsztrátja, egyetlen más szerves anyag sem lehet elektronakceptor. Ebbe a csoportba tartoznak az ún. „bendőbaktériumok”, a kérődzők megfelelő gyomorszakaszában élő, évente sok millió köbméter metánt termelő szervezetek. A *Methanococcales* fajait az jellemzi, hogy a H_2 mellett a hangyasav itt elektrondonor lehet, míg az akceptor csak a CO vagy CO_2 . A *Methanomicrobium* fajok szintén CO_2 -vel oxidálják a molekuláris hidrogént és a hangyasavat, de emellett egyszerű szénvegyületek fermentációja révén is képesek azokat metánná és szén-dioxiddá bontani (ez utóbbiak mixotrófok). A metántermelő baktériumok alapreakciója:

**6.2.2. Heterotróf – kemoorganotróf – energianyerés**

A heterotróf mikroorganizmusok kész szervesanyagokra utalt szervezetek. Energiájukat szerves anyag formájában felvett táplálék kémiai lebontásából szerzik. Ez a tápanyag biztosítja a saját szervezetük felépítéséhez szükséges építőköveket, a szintetikus folyamataik anyagutánpótlását (elsősorban a szénforrást), de egyéb anyagokat is: pl. nitrogénutánpótlás biztosítható szerves nitrogénvegyületekből. A heterotróf energianyerésre a mikroszervezetek túlnyomó többsége képes, az obligát fototróf *Chlorobiaceae* fajokat és néhány obligát kemolitotróf baktériumot (pl. nitrifikálók) kivéve. Az energianyerés aerob körülmények között léggzéssel (oxidatív foszforiláció), anaerob körülmények között erjesztéssel történik.

6.2.2.1. Légzés, oxidatív foszforiláció

Az aerob heterotróf mikroorganizmusok többsége a felvett szerves tápanyagok széntartalmának mintegy 50%-át bioszintetikus folyamataiban hasznosítja. A szénvegyületek maradék hányadát az energiatermelő anyagcsere során teljesen eloxidálják. A teljes oxidáció azt jelenti, hogy az energiaszerzésben hasznosuló szénvegyületek

szénatomjai energiatermelő anyagcsere végtermékeként, a szén legoxidáltabb formájában, CO_2 -ként távoznak. A tápanyag szerves molekulái egyúttal H-donorként is funkcionálnak, ezek a hidrogének koenzimek redukált alakjai révén, a citokróm rendszer segítségével végül a levegő O_2 -vel egyesülnek. A légzés – energetikai szempontból lényegi folyamata – a szénváz szállította hidrogének és az oxigén egyesülése. A szénváz leépülésével keletkezett CO_2 a biológiai oxidációnak nem „égéstermék”, a biológiai oxidáció lényege a hidrogén eloxidálása, a víz képződése. Az élővilág egészére jellemző oxidatív foszforilációs folyamatok univerzálisak. Rövid áttekintésükkel az a célunk, hogy bemutassuk az anyagcsere egyes lépései közti összefüggéseket.

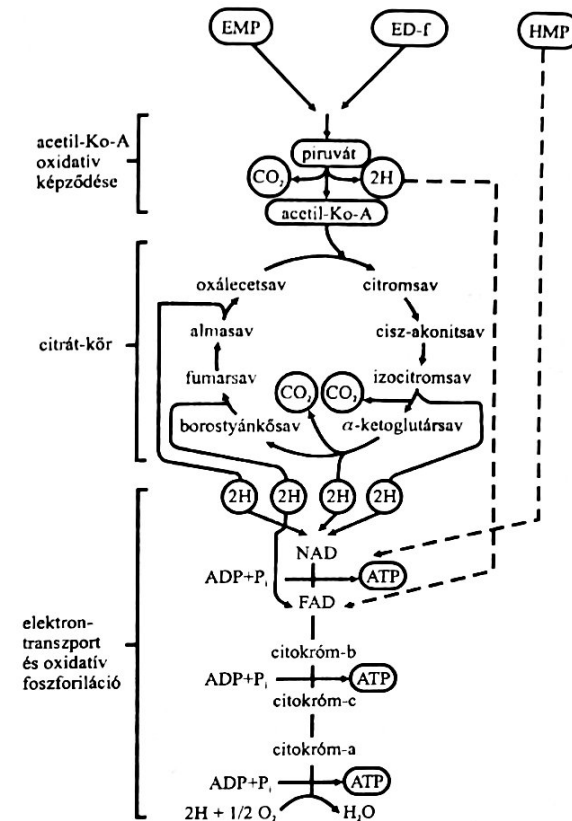
A mikroszervezetekben a szénhidrátok lebontása oxidatív körülmények között többféle módon történhet.

– **Fruktóz-1,6-difoszfát út, az Embden-Meyerhof-Parnas séma (EMP)** kémiai lépéseit tekintve a **piroszőlősav** keletkezéséig megegyezik az anaerob közegű glikolízissel. A keletkezett termékek (a már említett piruvát és a NADH_2 további sorsa eltérő, attól függően, hogy aerob légzés (6.7.a ábra), vagy anaerob erjedés irányába (6.9.a ábra) fut a folyamat tovább. A glükóz foszforilációja után (glükóz-6-P) izomerizáció révén **fruktóz-6-P** keletkezik, ez újabb foszfor felvételével **fruktóz-1,6-difoszfát** alakul (eddig ATP-t fogyaszt a rendszer). A difoszforilált fruktózból **aldoláz** hatására 2 **triózfoszfát** keletkezik. Egy izomeráz reakció révén egy egyensúly alakul ki a **dioxiaceton-P** és **gliceraldehid-3-P** között. Az első redukálódhat, a második oxidálódhat **glicerinsav-3-P** irányába. Egy újabb foszforiláció révén a **glicerinsav-1,3-difoszfát** keletkezik. A piroszőlősavvá alakulás defoszforilálást két ATP-t (foszfogllicerát-kináz, illetve piruvát-kináz hatására) és redukció miatt két NADH_2 -t eredményez.

A **piruvát** tovább oxidálódik (oxidatív dekarboxilezés ko-enzim-A és NAD segítségével), CO_2 , **acetyl-Ko-A**, és NADH_2 keletkezik. Az acetát belép a **trikarbonsav** (citromsav, vagy Krebs-Szent-Györgyi) ciklusba.

A hexóz bontás kezdeti lépései aerob anaerob folyamatokban azonosak. Az EMP-séma a triózok létrejöttéig egyaránt jellemzi a glikolízist, az élesztők alkoholos erjedését, illetve az oxidatív foszforiláció irányába történő váltást. A kezdeti lépések kémiaiájának azonossága az egyéb glükózlebontási sémák aerob, illetve anaerob változatánál is megfigyelhető.

– **2-keto-3-dezoxi-6-foszfoglükonát út** a glükóz másik lehetséges metabolikus útja. A folyamat szintén piroszőlősavhoz vezet, leírásról **Entner-Doudoroff folyamatnak (ED-f)** is nevezik. Ez a hexózbomlás jellemzi az aerob baktériumok (pl. *Pseudomonas*) légzési folyamatának kezdetét. Mint a fentiekben tárgyalt EMP-folyamatnak, ennek is van a piroszőlősav után egy, az anaerob erjedés irányába vezető változata (lásd bakteriális etanolos erjedés 6.9.b ábra). A folyamat a glükóz



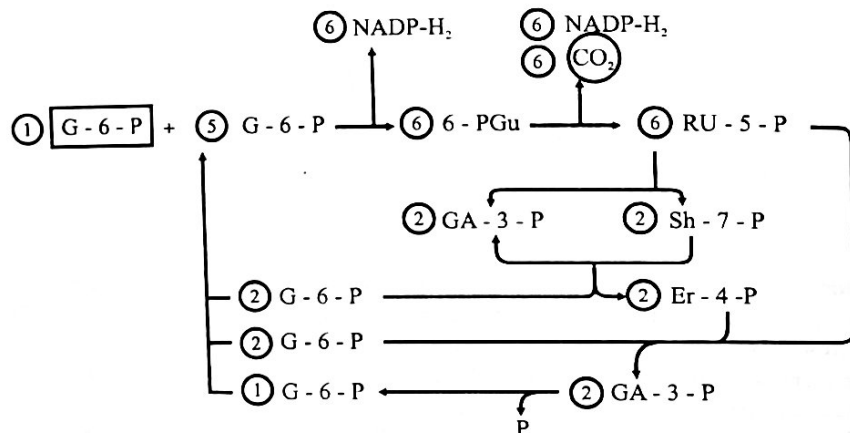
6.7.a. ábra: Az oxidatív foszforiláció lehetséges útjai, összefüggései, kapcsolatai:
EMP: fruktóz-1,6-difoszfát út; ED-f: 2-keto-3-dezoxi-6-foszfoglükonát út;
HMP: pentóz-foszfát ciklus

foszforilálódásával kezdődik, a **glükóz-6-P** NADP segítségével dehidrogenálódik és **glükonsav-6-P** keletkezik. Vízkilépéssel alakul **2-keto-3-dezoxi-6-foszfoglükonáttá**, amely **specifikus aldoláz** hatására közvetlenül egy-egy molekula **gliceraldehid-3-P**-ra és **piroszőlősavra** bomlik. A gliceraldehid-3-P közben szintén **piroszőlősav** alakul. A szubsztrátszintű foszforilálás az előbbi EMP-folyamattal szemben itt csak **egy molekula ATP-t** és **egy NADH_2 -t** és **egy NADPH_2 -t** eredményez hexózonként. A piroszőlősav oxidációtól a trikarbonsav ciklusig az út megegyezik a fruktóz-1,6-difoszfát út végső lépéseivel.

- **Pentóz-foszfát ciklus** (hexóz-monofoszfát schönt: **HMP**), más néven **Horecker-ciklus**, kezdő lépései kémiailag az Entner-Doudoroff folyamat első két történésével (6.7.b ábra). A glükóz foszforilációja után a **glükóz-6-P**-ből glükóz-6-P dehidrogenáz hatására, NADP segítségével **glukonsav-6-P** (6-P-glukonát) keletkezik. Egy újabb dehidrogénezés, újabb NADP, valamint **dekarboxiláz** enzim hatására **ribulóz-5-P** és CO_2 keletkezik. A ribulóz-5-P egy egyensúlyi helyzetet reprezentál a különböző pentóz foszfátok között. A pentózok és hexózok között interkonverziós lehetőségek vannak.

A folyamat (egy ciklusban) hat molekula glükóz-6-P-ből (hat glükóz és hat ATP felhasználásával), 6 CO_2 -t és 12 NADPH_2 -t eredményez. A folyamat tulajdonképpen ATP-szinten energiát nem termel (sőt 6 ATP-t fogyaszt). A **HMP-folyamatban** keletkezett nagyszámú NADPH_2 terminális oxidációban történő dehidrogénezése (visszaoxidálása) révén szolgáltat energiát, tehát a légzési láncban hasznosul a Horecker ciklus során lebontott egy glükózmolekula energiája.

A szénhidrát-metabolizmus különböző útjai különböző mikroszervezeteket jellemeznek, vannak fajok, csoportok amelyek egyedi sajátásként, egyik vagy másik lebontási folyamatra képesek. A mikrobák más csoportjai egyéb, az anyagcserét befolyásoló tényezőktől függően, változó lehetőségeként, egyik vagy másik katabolikus úton indítják heterotróf energianyerésüket. A 6.1. táblázat néhány példán keresztül szemlélteti az anyagcserelehetőségek változatosságát.



6.7.b. ábra: A pentóz-foszfát ciklus folyamat ábrája:

G-6-P: glükóz-6-P; 6-PGu: 6-P-glukonát (glukonsav-6-P), Ru-5-P: ribulóz-5-P, Sh-7-P: szedoheptulóz-7-P, Er-4-P: eritroz-4-P, GA-3-P: gliceraldehid-3-P

6.1. táblázat: Különböző mikroorganizmusokra jellemző hexózbontási utak, a bemutatott fajokra jellemző %-os megoszlásban

Mikroorganizmusok	EMP	HMP	ED-f
<i>Candida utilis</i>	70-80	20-30	-
<i>Streptomyces griseus</i>	97	3	-
<i>Penicillium chrysogenum</i>	77	23	-
<i>Escherichia coli</i>	72	27	-
<i>Bacillus subtilis</i>	74	26	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	29	71
<i>Gluconobacter oxydans</i>	-	100	-
<i>P. saccharophila</i>	-	-	100
<i>Alcaligenes eutrophus</i>	-	-	100

Trikarbonsav ciklus (citrátciklus, Krebs-Szent-Györgyi-ciklus) az **oxidatív foszforiláció központi folyamata**, ide torkollik minden piroszőlősavat eredményező cukorbontási folyamat. Ennek a körfolyamatnak lényege, hogy a belépő piroszőlősav három szénatomja CO_2 -molekulák formájában eltávozik a rendszerből, a szénlánc szállította hidrogének pedig további redukált NADH_2 -molekulákat eredményeznek (a piroszőlősavig már keletkezett NADH_2 , lásd 6.7. ábra).

A **légzés folyamata** kémiailag három lépésre osztható, ebből kettő citrátköri:

- 1) acetyl-Ko-A oxidatív képződése piroszőlősavból – egy CO_2 felszabadul,
- 2) az acetyl gyök eloxidálása a körfolyamatban – két CO_2 felszabadul,
- 3) az oxidációból származó redukált koenzimek hidrogénjeinek egyesítése a levegő oxigénjével – energiakötés, ATP keletkezése.

Az oxidatív foszforiláció **kulcslépése** az, hogy a piroszőlősav dekarboxilezésével az acetyl csoport koenzim-A-hoz kapcsolódik. Ide torkollik a nem szénhidrát metabolizmus is, az aminosavak, zsírsavak katabolikus származékai is itt oxidálódnak tovább. A piroszőlősav dekarboxilezésével együtt **három CO_2** lép ki, **egy ATP** keletkezik, **10 H** távozik (egy hexózra számolva, 2 hidrogén a piroszőlősavból, 8 a vízből ered, víz mint a kémiai reakció részese, nem csak ökológiai tényező). A felszabaduló hidrogén koenzimeket redukál (NADH_2 , FADH_2), ezek a hidrogének a terminális oxidációban redox enzimeken továbbadónak, míg végül végső akceptorokkal a levegő oxigénjével találkoznak.

A **terminális oxidáció** a mitokondrium belső membránjában, vagy a prokarióták citoplazmamembránjának mezozomális betűrődéseiben zajlik. Ez az ún. nem szubsztrát szintű foszforiláció színhelye. A belső membrán 20 nm-es sávjában található az elektrontranszport karrierjei: dehidrogenázok, flavoproteinek, kinonok, citokrómok (3-5000 molekula szabályos sorrendben). Velük együtt fordul elő az F_0 (oligomycin-érzékeny enzimösszegekapsoló) elemi fehérje és az F_1 ATP-áz enzim.

A mitokondrium **amfibolikus**, a katabolizmus mellett az anabolizmusnak is teret ad. A növekvő aktív anyagcserét folytató sejtekben sok intermedier található a mitokondriumokban.

Az elektron-szállítás (a redukált koenzimek hidrogénjeihez kapcsoltn) a molekuláris O_2 irányába igen erős redoxpotenciált eredményez (+0,82 V, 53 kJoule), ez több lépésben szabadul fel.

A **mitokondriális oxidatív foszforilálás** (a szubsztrát szintű két foszforilálással összesen) **36 ATP-t** ad, (18 x többet egy hexózra számítva, mint szubsztrát szinten a citoszolban folyó erjedés).

Szubsztrát szinten: $1 \text{ hexóz} \rightarrow 2 \text{ piroszőlősav} + 2 \text{ ATP} + 2 \text{ NADH}_2$

Mitokondriumban: $2 \text{ NADH}_2 \rightarrow 2 \text{ FADH}_2 \rightarrow 4 \text{ ATP}$,

a két piroszőlősav + $2 \text{ H}_2\text{O} \rightarrow 10 \text{ H}$ eredményez,

elektronpáronként 3 ATP keletkezik, ez összesen **30 ATP**, a szubsztrát szintű nyereséggel együtt **36 ATP**).

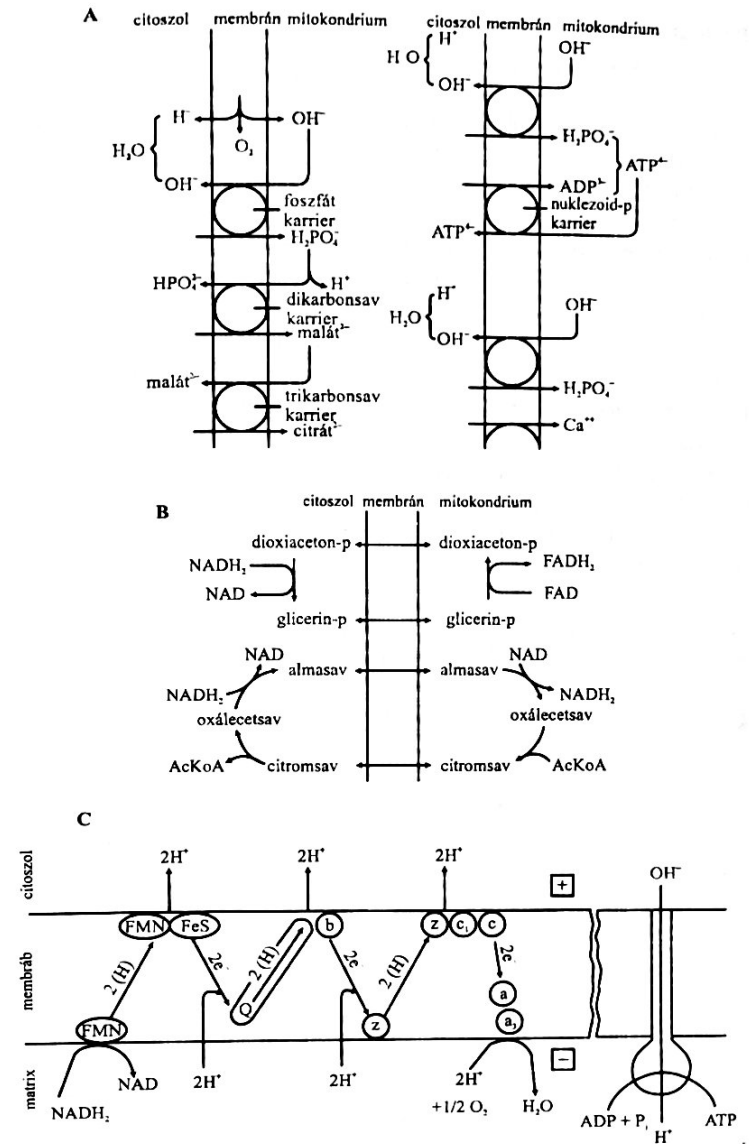
Amint arra az előzőekben utaltunk, a Horecker-ciklus 12 NADH_2 -t eredményez.

Az a tény, hogy 3 ATP keletkezik elektronpáronként, azt jelenti, hogy egy glükóza nézve a 36 ATP-nyereség a terminális oxidáció végére a HMP-folyamat révén is megtermelődik.

Az elektronpáronkénti 3 ATP keletkezésének magyarázata az, hogy három ATP generáló pont van a légzési láncban (lásd 6.7.a és 6.8.c ábra): 1) a $\text{NADH}_2 \rightarrow \text{FADH}_2$ -átalakulás; 2) a citokrom-b után; 3) a citokrom oxidáznál.

A kemoozmózis nem csak ATP-szintézist eredményez, hanem a belső membránon keresztüli aktív transzport lehetőségét is biztosítja. A transzport iránya, a fotoszintetikus membránokhoz hasonlóan, ellentétes az elektronvándorlással. A víz kivételével a belső membrán szemipermeábilis. A mitokondriális membrán az anyagcsere-terek elkülönülését, a **kompartment** létrejöttét biztosítja. Az anyagvándorlást karrierek végzik, a **specifikus karrierek** energiaigényesek. A **foszfát karrierek** az elsődlegeseek, ezek „hajtják” a többi karriert. Másodlagosak a **dikarbonsav karrierek**, végül a sorrendet a **trikarbonsav karrierek** zárják. Ha a mitokondrium -OH-gazdag, akkor a foszfát antiporttal transzportálódik. A foszfátkarrierek lecserélhetik a mitokondrium ATP-jét a citoplazma ADP-jével, a foszfát és a Ca^{++} szimportja megszünteti a proton grádienszt és így leállíthatja az oxidatív foszforilációt (6.8.a ábra).

A nukleozid koenzimeknek nincs karrierje, **specifikus reteszmechanizmus** érvényesül. Ennek lényege az, hogy **koenzim-specifikus dehidrogenázok** a mitokondriumon belül és kívül is „dolgoznak” váltakozva (pl. glicerinfoszfát dehidrogenáz, vagy almasavdehidrogenáz). Az enzimek nem, de **szubsztrátjaik vándorolnak**, ez a reteszmechanizmus az intermedier anyagcsere (az energiaellátás) egyik legfontosabb biokémiai szabályzórendszere (6.8.b ábra).



6.8. ábra: Mitokondrium membrán folyamatok:

A: transzportfolyamatok karrierekkel; B: reteszmechanizmus;

C: energiaképződés kemoozmotikus protonpumpa és elektrontranszport révén

A Pasteur-effektus jelenségét az élesztőgombáknál figyelték meg először. Ezek a szervezetek anaerob közegben glükózból etanolt erjesztenek, aerob körülmények között (az oxidatív foszforiláció egy glükózra jutó jóval magasabb energiahozadéka miatt) a glükózfogyasztásuk lecsökken, etanoltermelésük megszűnik. A változás elsődleges oka nem az O_2 jelenléte (nem ez a közvetlen ok). A jelenség oka a mitokondrium belső membránjához kapcsolódó (a fentiekben már említett) szabályzó mechanizmus. Az etanoltermelés drasztikus csökkenésének közvetlen előidézője az, hogy az **alkoholdehidrogenáz** működéséhez szükséges $NADH_2$ -t aerob körülmények között a reteszmechanizmus „elszívja”. A $NADH_2$ a mitokondriumban oxidálódik vissza, nem a citoszolban, így a piroszőlősav sem tud redukálódni (etanolképződés irányába), hanem acetyl-Ko-A formájában belép a mitokondriumba és ott oxidálódik tovább. Az energiaellátás szabályzásában két kulczenzim szerepe fontos. A **foszfofruktokináz** alloszterikus enzimet a citoplazma ADP-szintje serkenti, magas ATP-tartalma gátolja. Előzőekben említettük, hogy intenzív mitokondriális tevékenység esetén a citoszol ADP-je ATP-re cserélődik. Ekkor gátlódik a foszfofruktokináz, kevesebb glükóz foszforilálódik, lép be az EMP-folyamatba. A másik alloszterikus enzim az **izocitrátdehidrogenáz** intenzív működés esetén szintén gátlódik a nagy ATP-, $NADH_2$ - és citromsavszint miatt. A citromsav (ami az intenzív termelés miatt a citoplazmába áramlik) gátlólag hat a bemeneti oldalt szabályzó foszfo-fruktokinázra is és így eleve kevesebb glükóz jut a rendszerbe.

Ha sok a glükóz, a fakultatív aeroboknál **ellentétes irányú szabályozás** érvényesül, aerob körülmények között is képesek erjeszteni (ipari szeszgyártásnál alkalmazzzák). Katabolit represszió érvényesül, az oxidatív folyamat enzimek nem csak gátlódnak, de szintézisük is csökken.

6.2.2.2. Erjedési folyamatok

A teljes oxidációval szemben, az erjedések alkalmával, a **részleges oxidáció** végtermékeként a CO_2 -nál kevésbé oxidált vegyületek (is) keletkeznek. Vagyis a szerves szubsztrát H-jét magának a szubsztrátnak a bomlásterméke veszi át. Így ez a H-akceptor és egyben a redukált végtermék is, emellett legtöbb erjedés során CO_2 is keletkezik. Az erjedési folyamatok anaerob, illetve aerob körülmények között játszódnak le. Az aerob erjedések azért igénylik az oxigén jelenlétét, mert az erjedés során bekövetkező dehidrogénezések nagymennyiségű redukált koenzimet eredményeznek, ezek visszaoxidálásához a terminális oxidáció rendszere biztosít lehetőséget. Maga a folyamat kémiája megfelel az erjedés kritériumának, részleges az oxidáció, a lebomló szerves anyag H-jének akceptora részben maga a szubsztrát bomlásterméke.

6.2.2.2.1. Anaerob körülmények közötti erjesztések

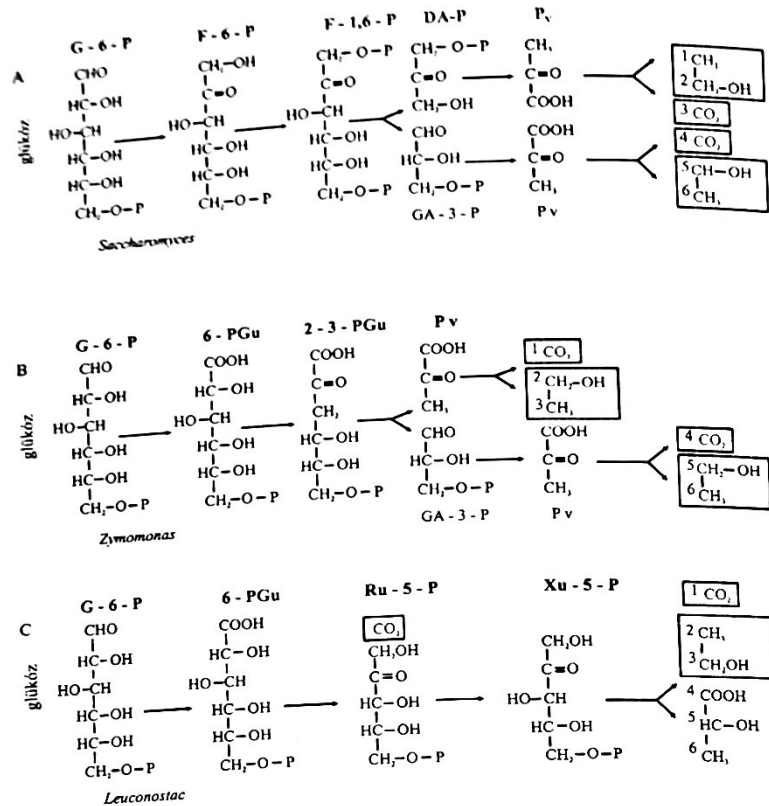
Ezt a típusú erjesztést végezhetik mikroszervezetek a levegő teljes kizárásával pl. obligát anaerob *Clostridium*ok vajsavas erjedése, de folyhat fakultatív tevékenység révén, pl. élesztőgombák etanolos erjedése, ahol a körülmények változása esetén a hexóz bomlási folyamata a piroszőlősav után oxidatív irányba átkapcsol.

Élesztők alkoholos erjedése

A különböző energianyerő folyamatokat a legáltalánosabb szénforrásból, a D-glükóz molekulából kiindulva vázoljuk. Mint azt a fentiekben említettük, a légzés erjedés anyagcsereútjának első része (az EMP-séma szerint) a piroszőlősav keletkezéséig megegyezik. Az alkoholos erjedés során a piruvát decarboxilálódik acetaldehiddé, és ennek etanollá redukálása regenerálja az addigi folyamatban keletkezett $NADH_2$ -molekulákat NAD-dá. Az eredmény glükózonként **2-2 molekula etanol, CO_2 , ATP és $NADH_2$** . Ha az acetaldehidet elvonjuk (pl. szulfid hozzáadásával), akkor a $NADH_2$ a dioxiaceton foszfáttal lép reakcióba, az enzim oxidálódik és glicerin keletkezik.

Bakteriális etanolos erjedések

Az élesztőgombák körében ismert etanolos erjedés a baktériumok között csak elvétve fordul elő, ilyen kivétel pl. *Sarcina ventriculi*. Az *Agave americana* fermentlevéből izolált pálcika alakú, polárisan flagellált, mozgó baktérium, a *Zymomonas mobilis* a glükózt a **2-keto-3-dezoxi-6-foszfoglükonát** úton (az oxidatív Entner-Doudoroff folyamat kezdő lépéseinek megfelelően) át metabolizálja. A piruvátot piruvát decarboxiláz segítségével acetaldehiddé és CO_2 -dá hasítja, majd az acetaldehidet tovább erjeszti alkohollá. Glükózonként **2-2 molekula etanol és CO_2** , valamint **egy molekula ATP** keletkezik (az egyik piruvát nem a foszfogliceráton át keletkezik). Míg az élesztős fermentáció során keletkező alkohol a glükóz 1-2. és 5-6. C-atomjából származik, addig a bakteriális fermentációnál a végtermék a 2-3. és 5-6. C-atomjából képződik (6.9. ábra). Ez a hexózbomlás azonban nem csak az anaerob erjedési folyamatot jellemzi, hanem a baktériumokban folyó oxidatív foszforiláció (légzés) bevezető szakaszaként a piruvátig történő átalakulást biztosítja. A piruvát decarboxilezése után az acetyl-Ko-A köztes termékén keresztül a terminális oxidáció felé vezet az út (ez az energiaszerzés jellemzi az aerob baktériumok egy jelentős részét pl. *Pseudomonas*okat). Etanol más egyéb bakteriális erjedési folyamatok során is keletkezik mint melléktermék, vagy mint az egyik végtermék. Összehasonlítva a „valódi etanolos” erjedések glükóz \rightarrow etanol konverzió sémáját (6.9.a és 6.9.b ábra), az utóbbi erjedések során keletkezett etanol a korábbiaktól eltérően a glükóz más szénatomjából származik.



6.9. ábra: Etanolos erjedések lehetséges változatai:

A: élesztőgombák erjedési sémája; B: Zymomonas típusú bakteriális alkoholos erjedés; C: Leuconostoc fajok heterofermentatív tejsavas erjedése etanolképződéssel.

Rövidítések: G-6-P: glükóz-6-P, F-6-P: fruktóz-6-P, F-1,6-P: fruktóz-1,6-di-P, DA-P: dioxiaceton-P, Pv: piroszőlősav, 6-PGu: 6-foszfoglukonát (gukonsav-6-P, 2-3-PGu: 2-keto-3-deoxi-foszfoglukonát, GA-3-P: glicerinaldehyd-3-P, Ru-5-P: ribulóz-5-P, Xu-5-P: xilulóz-5-P.

Tejsavas erjedések:

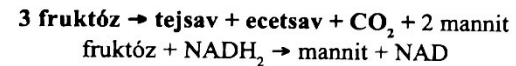
A laktózt egyedüli szénforrásként (a többi oligoszacharidhoz képest) viszonylag kevés mikroba tudja hasznosítani. Főleg a *Lactobacillus*ok között találhatunk ilyeneket. Ezek a laktózt először glükózzá és galaktózzá hidrolizálják, majd a galaktózt foszforilálják és glükóz-6-foszfáttá konvertálják. A tejsavas erjedés elsődleges szubsztrátja azonban nem a tejcukor, hanem a hexózok és pentózok. A tejsavas erjesztésre képes baktériumokat a **hexózmetabolizmusuk alapján, homo- és a**

heterofermentatív tejsavas erjesztőként csoportosíthatjuk. Az erjedés biokémiai mechanizmusa alapvetően eltérő a két esetben. A **homofermentatív** tejsaverjesztő baktériumok a glükózt csaknem kizárólag tejsavvá erjesztik (lényegét tekintve ez a folyamat azonos a glikolizissal), míg a **heterofermentatív** fajok erjedési végtermékei között a tejsavon kívül mindig van CO₂, továbbá egyéb vegyületek (pl. etanol, acétát H₂). A két erjedési típust reprezentáló fajok között vannak olyan fajok, amelyek közvetlenül pentózt is használhatnak szubsztrátként. A pentózok metabolizmusában azonban nem mutatnak különbséget.

A glükóz **homofermentatív** erjesztése a glikolitikus úton halad a piruváttig. A hexóz molekula **aldoláz** enzim hatására hasad. A glicerinaldehydfoszfát oxidációjakor képződött NADH₂ a piroszőlősav közvetlen redukciójával regenerálódik, ekkor tejsav képződik (6.10.a ábra). A tejsavdehidrogenáz sztereospecifitásától függően a képződött tejsav konfigurációja különböző lehet (optikailag jobbra [D] vagy balra [L] forgató), ez a tulajdonság az egyes tejsavbaktérium fajokra jellemző. A pálcá alakú *Lactobacillus* fajok közül a *L. delbrückii*, *L. lactis*, *L. helveticus*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei* továbbá a kokkoid *Streptococcus* nemzetséghez tartozó fajok, pl. a *S. lactis*, *S. faecalis*, *S. pyogenes*, *S. salivarius*, *S. cremoris* végeznek homofermentatív tejsavas erjesztést.

A **heterofermentatív** tejsavas erjedés a homofermentatív folyamattól azért tér el, mert ezeknek a fajoknak **nincs aldoláza**, így a hexózbontás a hexóz monofoszfát (pentózfoszfát) út egyik változata szerint történik. A glükóz-6-foszfát **glükonsav-6-foszfáttá** dehidrogeneződik, majd további dehidrogenezési reakciók révén labilis köztes termékeken át CO₂-ra és **ribulóz-5-foszfátra** hasad. Ez utóbbi epimerizálódik **xilulóz-5-foszfáttá**, amit a **foszfoketoláz glicerinaldehydfoszfátra és acetilfoszfátra** hasít. Az előbbi piruváton át **tejsavvá** redukálódik, az utóbbi továbbalakulása viszont eltérő lehet (lásd 6.10.b ábra). A *Leuconostoc* fajok – *L. mesenteroides*, *L. cremoris* – acetaldéhidé, majd **etanollá** redukálják az acetilfoszfátot, a heterofermentatív *Lactobacillus*-ok – *L. brevis*, *L. fermentum*, *L. viridescens* – acetátkináz enzimükkel **ecetsavvá** alakítják át (egy további ATP keletkezik).

Egyedi sajátosságokat mutat a *Leuconostoc mesenteroides* tejsaverjesztési képessége. Ez a baktérium szacharóz jelenlétében a glükózból dextrán tokot polimerizál, a fruktózt hasznosítja szénforrásként, erjesztéssel termel energiát az alábbi séma szerint:



A NADH₂ visszaoxidálása egy fruktóz molekula mannittá történő redukálásával megy végbe. A már nem szaporodó *L. mesenteroides* sejtek, átmosás után, képesek glükózt fermentálni. A glükózbontás eredménye:

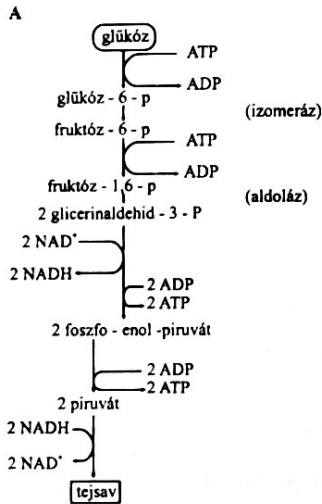


A. L. mesenteroides a pentózokat CO₂ keletkezése nélkül tejsavra és ecetsavra bontja. A homo- és heterofermentatív erjedés különbsége a glükóz (és néhány további hexóz) metabolizmusának eltérő módjában nyilvánul meg. A heterofermentatívokból hiányzik a glikolízis egyik kulczenzime, az aldoláz (helyette foszfoketolázuk van), viszont megtalálható a glükóz-6-foszfát dehidrogenáz és a glükonsav-6-foszfát dehidrogenáz. A pentózok erjesztése azonos mind a heterofermentatív, mind a homofermentatív fajoknál, a végtermék tejsav és ecetsav (gázképződés nélkül). Így pl. a glükózt homofermentatívan erjesztő *Lactobacillus plantarum* a pentózokat foszfoketolázzal tejsavvá és ecetsavvá bontja, azaz heterofermentatív módon fermentál.

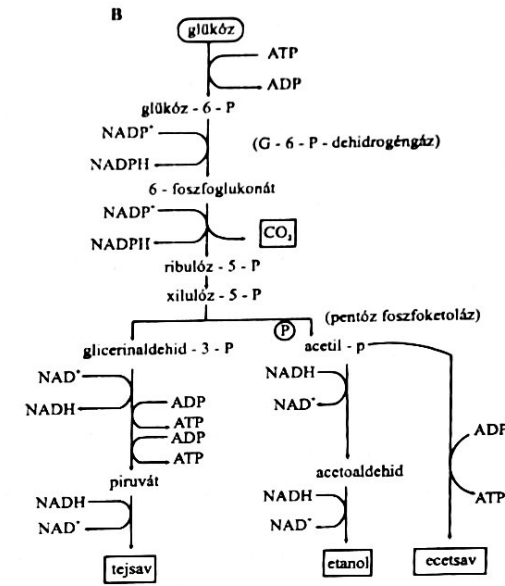
A *Bifidobacterium*ok heterofermentatív tejsavas erjedése minden más tejsavas erjedéstől eltérő típusú egyedi folyamat. Ezeknek az obligát anaeroboknak – amelyek kedvelik a 10% CO₂-jelenlétet – nincs aldolázuk, de nincs glükóz-6-foszfát dehidrogenázuk sem. A foszfoketoláz enzimjük képes a fruktóz-6-foszfátot acetil-foszfátra és eritroz-4-foszfátra bontani, míg a xilulóz-5-foszfátot ugyanez az enzim acetil-foszfátra és glicerinaldehid-3-foszfátra vágja szét (lásd 6.10.c ábra).



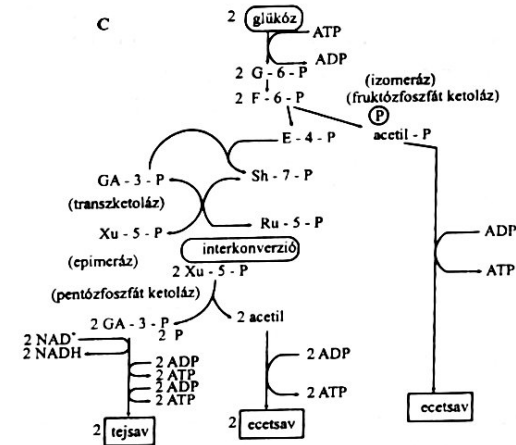
A heterofermentatív tejsavas erjesztők többféle pentózt képesek szubsztrátként hasznosítani. Hasonlóan a pentóz ciklushoz ezek a fajok is képesek interkonverziókat végrehajtani a pentózok között, így gyakorlatilag bármely pentóz egyedüli szénforrásként való hasznosítására képesek.



6.10.a. ábra: Homofermentatív tejsavas erjedés



6.10.b. ábra: Heterofermentatív tejsavas erjedési folyamatok



6.10.b. ábra: A *Bifidobacterium*ok heterofermentatív tejsavas erjedése

A tejsavas erjedés lényeges folyamat gyakorlati biotechnológiai szempontból is. A pentózokat is jelentős mennyiségben tartalmazó nagytömegű növényi anyag tejsavas erjedési terméke a siló. A növényi zöld takarmány, a tejsav okozta alacsony pH-n jól konzerválódik, bakteriális tevékenység révén a takarmány vitamintartalma növekedhet, bizonyos mértékű előfermentálódása segíti állatok általi hasznosítását. Tejsavas erjedés a káposztaszavanyítás és a kovászosborka-készítés is. Maga a kovász, őseink kenyérkelesztő „starter kultúrája”, élesztő (*Saccharomyces*) és tejsavbaktériumok természetes vegyes populációja. A tejipar különböző tejtermékek előállításakor különböző tisztítanyaszeteket, vagy laboratóriumban ellenőrzött vegyes kultúrákat használ. A heterofermentatív erjedésű tejtermékek akár 1–3% alkoholt is tartalmazhatnak.

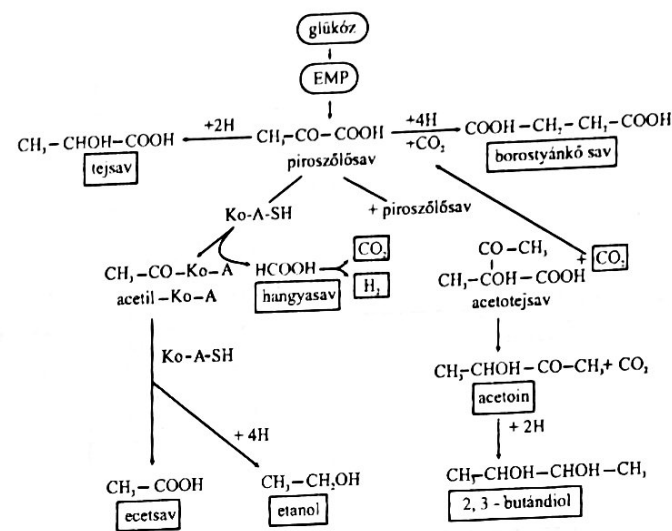
Enterobacteriaceae erjedései

A bélbaktériumok elkülönítésében a különböző végtermékeket eredményező erjedési folyamatok fontos szerepet játszanak. Ez a kevertsavas erjedés is a glikolitikus úton halad egészen a piruvátig. A közös útból már többféle reakció vezet tovább, így az erjedési végtermékek különbözőek lehetnek mind minőségükben, mind pedig egymáshoz viszonyított arányaikban.

A hangyasavas erjedések során a piruvát **hangyasavra** és acetil-Ko-A-ra hasad. A hangyasav csak bizonyos bélbaktériumoknál marad meg végtermékként (pl. *Salmonella typhi*, *Shigella* fajok), az *Echerichia coli*-nál a hangyasav-hidrogénliáz segítségével CO_2 -ra és H_2 -re bomlik. Az etanol itt nem a piroszölősav dekarboxilezésével keletkezik, mint az EMP-folyamatban, hanem az acetil-Ko-A-ból acetilfoszfáton át részben **ecetsavvá**, részben **etanollá** redukálódik. A piruvát közvetlenül **tejsavvá** alakulhat továbbá, a tejsavnak CO_2 -dal való kapcsolódása révén, oxálsavon át **borostyánkősav** is keletkezik. Az *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia* fajoknál két molekula piruvát aceto-tejsavvá kondenzálódik, majd **acetoin** köztes terméken át redukcióval **2,3-butándiol** keletkezik (oxidációval keletkezik, jellegzetes aromaanyagként, diacetil is). Az acetoinon keresztüli erjedési út mindig CO_2 -képződéssel jár együtt (6.11. ábra). Ezeknél a baktériumoknál a szén-dioxid : hidrogén arány a szén-dioxid javára tolódik el.

Vajsavas erjedés

Míg az eddig ismert erjedési folyamatok olyan mikroszervezetekre jellemzők, amelyek alternatív oxidatív energiaszerzésre is képesek, vagy fakultatív anaerobok (alapvető energiaszerzésük az anaerob közegű erjedés), azaz az oxigén jelenléte nem gátolja a működésüket, addig a vajsavas erjedés az obligát anaerob baktériumokra jellemző folyamat. Közismert vajsavas erjesztők a *Clostridium*ok. A vajsavas erjedés a természetben számtalan helyen zajlik, lényeges folyamat a szerves makromolekulák anaerob közegű lebontása szempontjából (a *Clostridium*ok képesek primer

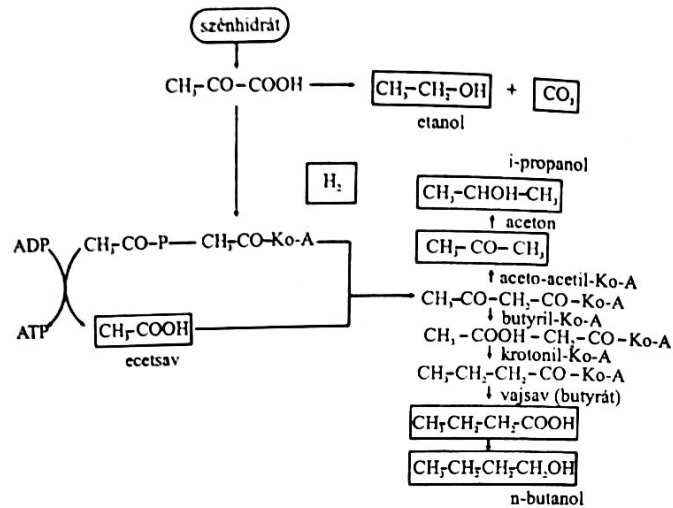


6.11. ábra: Az *Enterobacteriaceae* (kevertsavas) hangyasavas erjedési folyamatai

szénforrásukat makromolekulák bontása révén megszerezni). A vajsav kellemetlen szagú termék, ez az intenzív szag lehet kísérője az egyébként tejsavas erjedéssel jellemezhető silótakarmány-fermentálásnak, továbbá a kenderáztatásnak, ami a rostnövény vizes közegű, anaerob előfermentálását jelenti (az elemi cellulóz szálak mellől a könnyen emészthető növényt felépítő anyagok elbomlanak *Clostridium*ok hatására).

A *Clostridium*ok a kellemetlen szagú **vajsav**, a CO_2 , H_2 , **ecetsav** mellett többféle oldószer (n-butanol, izo-propanol, acetoin, etanol) termelésére is képesek (lásd 6.12. ábra). A *Clostridium*ok ipari jelentőségük az oldószergyártás szempontjából. Az I. világháború idején a tengeri blokád alatt tartott Angliában *Clostridium*ok segítségével butanolt, izopropanolt, acetont állítottak elő ipari mennyiségben a műgumigyártáshoz és robbanóanyag-gyártáshoz.

A hexózokból kiindulva piroszölősavig az EMP-folyamat mentén folyik a le-bomlás. A piroszölősavból való **etanolképződés** feltehetően szintén az EMP-séma szerint zajlik. A másik lehetséges út, a piroszölősav dekarboxileződése (CO_2 felszabadul) után az acetát koenzim-A-hoz kapcsolódik. Az acetil-Ko-A foszforilálódhat, majd ATP keletkezése közben **ecetsav** szabadulhat fel. Az ecetsav egy másik acetil-Ko-A-val aceto-acetil-Ko-A-vá kondenzálódik, ez a kiinduló kulcsreakciója a további oldószer jellegű végtermékek képződésének. A redukciós út köztes termékei: a 3-hidroxi-butiril-Ko-A, majd butiril-Ko-A, amely hidrolizál **vajsav** és Ko-A alko-



6.12. ábra: A Clostridiumok vajsavas erjedési folyamata

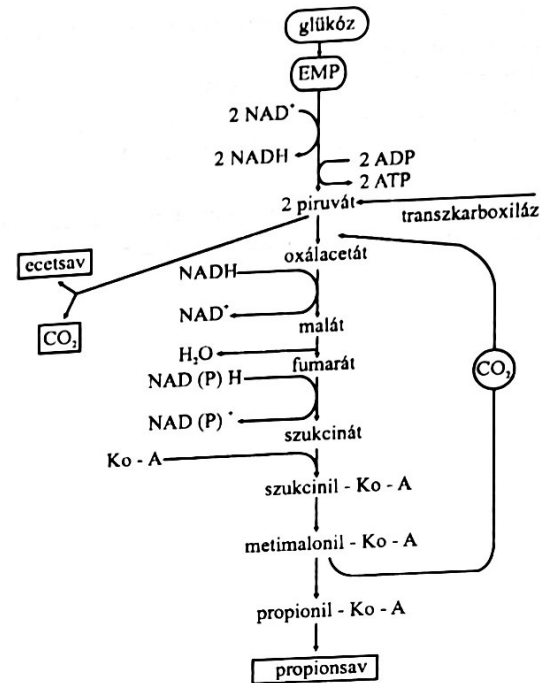
tőelemekre, a vajsav további redukciója adja a **n-butanolt**. Az eto-acetil-Ko-A oxidatív decarboxileződésének terméke az **aceton**, amely **izo-propanollá** redukálódhat. A különböző kondenzációs oxidációs folyamatok során a vízkilépés mellett molekuláris H₂ is keletkezik.

6.2.2.2.2. Aerob erjedések

Az ún. aerob erjedések igénylik a normális légköri oxigéntenziót. Nem a szubsztrát-lebomláshoz kell az oxigén, hanem a folyamatok során a nagy mennyiségben keletkező redukált koenzimek regenerálásához

Citromsavas erjedés

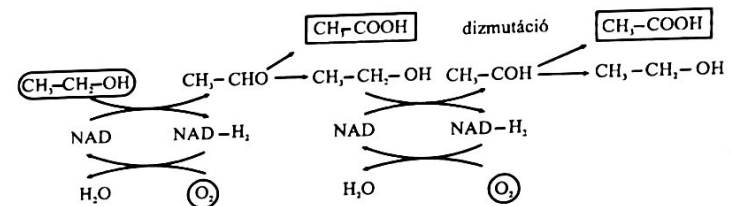
Ezt az erjedést az aerob *Aspergillus* és *Penicillium* fajok fermentlevegében figyelték meg. A glükózból, EMP-séma szerinti, 2 molekula piruvát keletkezése után az egyik felhasad, szén-dioxidra és acetaldehidre. A keletkezett szén-dioxid a maradék piruváttal kondenzál, oxálecetsav képződik. A decarboxilálódott acetátmaradék koenzim-A-val egyesül acetil-Ko-A-vá. Ez utóbbi az acetil csoportját egyesíti az oxálecetsavval és így citromsav képződik. A citromsavas erjedés részleteit, szabályozását lásd a 6.13. ábrán. A folyamat elvileg 100%-os kimenetelű, egy glükózból egy citromsav keletkezik. A gyakorlatban, a termelő mikroszervezet elszaporítása után, a folyamat igen magas, 90% körüli konverziós értéken folyik.



6.13. ábra: A citromsavas erjedés lépései és szabályozása

Ecetsavas erjedés

Ezen az erjedésen az etanolnak ecetsavvá történő részleges oxidációját értjük. A szubsztrát etanol dehidrogénezési folyamatban az acetaldehid, illetve annak hidrált alakja szerepel intermedierként. A keletkezett redukált koenzimek az elektrontranszport-láncban oxidálódnak, H akceptorként szerepelhet azonban egy másik acetaldehid molekula is, ilyenkor dizmutációval ecetsav és etanol keletkezik. Az alkohol



6.14. ábra: Ecetsav keletkezése etanóból

ismét dehidrogéneződik és az ecetsav képződése tovább folytatódik (6.14. ábra). A folyamatot az *Acetobacter* fajok végzik.

Ecetsav több más anaerob erjedés során is keletkezik melléktermékként (lásd tejsavas, hangyasavas, vajsavas erjedések). Tisztán azonban ennek a folyamatnak a révén jutunk hozzá. A mikrobiológiai úton előállított ecetnek elsősorban étkezési célokra történő felhasználásban van jelentősége.

További aerob erjedési folyamatok közül, mint ipari méretekben is jelentős erjedési folyamatot, a glükonsavas erjedést kell megemlítenünk.

HORNOK LÁSZLÓ

7. A MIKROORGANIZMUSOK GENETIKÁJA



A genetika a tulajdonságok öröklődésével foglalkozó tudományterület, azt vizsgálja, hogyan történik a biológiai sajátosságok szülőről utódra való átvitele, mely tényezők befolyásolják a sajátosságok megnyilvánulását és változékonyságát, milyen a genetikai anyag szerkezete és működése, s hogyan módosulhat ez a genetikai anyag. Aszerint, hogy milyen szinten folynak a genetikai tanulmányok, megkülönböztetünk **sejtgentikát**, amely sejtszinten vizsgálja az öröklődés törvényszerűségeit, **kromoszóma-genetikát**, amely a kromoszómák szerkezetével és viselkedésével foglalkozik, valamint **molekuláris genetikát**, amelynek tárgya a gének szerkezetének és működésének biokémiai elemzése. Sok más tantárgy is foglalkozik genetikai ismeretek átadásával, de számos oka van annak, amiért a mikrobiológia sem hagyhatja figyelmen kívül ezt a diszciplínát. A mikroorganizmusok kínálják a legegyszerűbb modellt az alapvető genetikai törvények megismeréséhez. Mikrobákat használnak más élőlényekből származó gének molekuláris klónozására, s általában mikrobák segítségével történnek a géntechnológiai beavatkozások. Az ipar különböző területein használatos mikroorganizmustörzseket éppúgy nemesítjük genetikai eszközökkel, mint a növényeket vagy az állatokat. A kórokozók elleni védekezés pedig csak akkor lehet igazán hatékony, ha a beavatkozások a patogén mikrobák genetikailag determinált betegségkeltő képességének ismeretén alapulnak.

7.1. Genetikai alapismeretek

Bármely faj fennmaradásához szükség van önreprodukcióra, az egyed teljes tulajdonságkészletének lehetőleg hibátlan átörökítésére. Az egysejtű mikroorganizmusok esetében a szaporodás és a sejtosztódás egybeeső történések, így az utóbbi nem csupán a sejtömeg megduplázódása, majd kettéosztódása, hanem a genetikai anyag megkettőződése is: amikor a szülősejt osztódik, a két utódsejtbe (vagy leánysejtbe) minden kromoszómából pontosan ugyanaz a kópia kerül, az utódok megkapják a szülői sejt genomjában kódolt összes információt, normális körülmények között az alapvetően fontos információt éppen úgy mint a nélkülözhetőt, vagy látszólag fölöslegeset.

A **genom** a sejtben meglévő genetikai anyag összessége. Bár a genom nagy részét a kromoszómákban tömörült genetikai anyag adja, vannak extrakromoszómás alkotói is: a legtöbb baktérium és sok gomba kicsiny DNS-elemeket, ún. plazmidokat tartalmaz, amelyek fontos tulajdonságok kódját hordozhatják. Az eukarióták bizonyos sejtorganelumai is – így a kloroplasztiszok és a mitokondriumok – saját genetikai programmal vannak ellátva. A sejtes szerveződésű mikroorganizmusok genomja kizárólag DNS, a vírusok alapvető genetikai anyaga azonban lehet DNS vagy RNS is.

Általánosságban kimondható, hogy a **kromoszóma** határozott struktúrájú elem a sejten belül, nem más mint egy hosszú, gondosan összecsomagolt és megfelelően

burkolt DNS-darab. Jelentős különbségek vannak azonban az eukarióták és a baktériumok kromoszómája között: az előbbiekben a DNS-nek hiszton és nem hiszton fehérjék adnak határozott formát, az utóbbiakban bázikus fehérjék szolgálnak csomagolóanyagként. Az eukarióta mikroorganizmusok kromoszómái a sejtmagban tömörülnek, számuk háromtól néhány tucatig terjed, lineárisok és – diploid sejtekben – párosan is előfordulhatnak. Ezzel szemben a baktériumoknak egyetlen kromoszómájuk (genoforjuk) van, ez a citoplazmába ágyazott, de a sejtmembránhoz kapcsolódik, mindig haploid és zárt, cirkuláris szerveződésű.

Minden kromoszóma információs alegységeket, géneket tartalmaz. Klasszikus genetikai meghatározás szerint a gének az öröklődés olyan egységei, amelyek a sejt valamilyen tulajdonságáért felelnek; molekuláris genetikai definíció szerint a DNS-molekula olyan szegmensei, amelyek a sejt valamely funkciójához szolgálnak információval. Leghelyesebb azonban, ha e definíciók szintéziseként azt mondjuk: a gének a DNS (bizonyos vírusokban az RNS) olyan szakaszai, amelyek valamely fehérje- vagy RNS-molekula előállításához szükséges kódot tartalmazzák.

A genom nagysága nagyon különböző lehet: a burgonya Y vírusé például mindössze 10 kbp (kilobázispár), 7 gént tartalmaz, az *E. coli* genomja 4,7 Mbp (megabázispár) körüli, és egyetlen kromoszómáján 3000 gén található, a bonyolultabb fonalas gombák sejtmagi genomja – haploid, egyszemű állapotban – 15 és 70 Mbp között mozog, s akár 10 000 génjük is lehet; a mitokondrium DNS nagysága 20–170 kbp néhány tucat génnel.

7.1.1. A DNS felépítése, replikációja

Ha az *E. coli* egyetlen kromoszómáját kibontanánk, a benne levő DNS-t kinyújtánánk, ezen óriásmolekula hossza elérné az 1 mm-t, vagyis durván ezerszeres lenne hosszabb, mint az öt magába foglaló baktériumsejt, mely csupán 1–2 μ m-es. Elevenítsük fel e csodálatos képződményre vonatkozó ismereteinket azok kedvéért, akik rendszeres genetikai tanulmányaik előtt veszik kézbe könyvünket. A DNS két polinukleotid szálból áll, s a két szál egy 2 nm átmérőjű kettős spirálba rendeződik. A polinukleotid alkotói dezoxiribóz, foszforsav és különböző nitrogéntartalmú heterociklikus bázisok. Az egymást követő cukor- és foszfátmolekulák alkotják a vázát oly módon, hogy két foszfátmolekula, foszfodiészter kötással kovalensen kapcsolódik egy-egy dezoxiribóz molekulához; az egyik kötés a cukormolekula 5' szénatomján van, a másik a 3' szénatomon. A heterociklikus bázisok – amelyek lehetnek purinok (adenin, guanin) vagy pirimidinek (timin, citozin) – szintén kovalensen kötődnek a cukormolekula 1' szénatomjához, s e bázisok biztosítják a DNS két szálának összekapcsolódását. Ez a kapcsolódás azonban már nem egy erős kötés, csupán könnyen felszakadó hidrogénhidak képezik, ami lehetővé teszi az egész mole-

kula „zippzárként” való szétnyílását. Mindig purinbázis kapcsolódik pirimidinhez, de még ezen belül sem véletlen a párválasztás: az adenin (A) mindig timinnel (T) alkot párt, a guanin (G) pedig kizárólag citozinnal (C) kapcsolódik. Ez az egyszerű párosodási szabály a genetika nyelvezetének alapja. Maga a párosodás ugyan kökemény regula szerint történik, de a különböző élőlények DNS-én a bázisok nagyon eltérő sorrendben helyezkedhetnek el; ez pedig a genetikailag kódolt változékonyság alapja. Még annyit kell megemlíteni, hogy az a képzeletbeli létra, amit oldalról a cukor-foszfát lánc alkot, fokait pedig a hidrogénhidakkal összekötött purin- és pirimidinbázis adják, meg van tekeredve – méghozzá általában jobbmenetesen; egy-egy csavarmentet tíz bázispárból áll, magassága 3,4 nm.

A DNS bázissorrendje tartalmazza mindazt a genetikai információt, ami az adott élőlény fennmaradásához és szaporodásához szükséges. Nyilvánvaló, hogy különleges mechanizmusok kelljenek ahhoz, hogy ez a specifikus bázissorrend minden egyes osztódás során pontosan leképeződjék, sőt nem csupán egy-egy osztódás alkalmával, de generációk millióin keresztül biztosítani kell az állandóságot, ami csak igen kevés régi tulajdonság elvesztését vagy újak megszerzését engedi. A mikrobsejtben – de ugyanígy történik ez a magasabbrendű lényekben is – megfelelő üzenet hatására megkezdődik a kromoszómák, valójában a DNS megkettőződése, s jól táplált, egészséges sejtben, az egész folyamat hallatlanul gyorsan le is zajlik: a legtöbb baktériumban például mindössze 20–30 perc alatt.

A DNS megkettőződéséhez mintegy 30 különböző enzim összehangolt működésére, megfelelő alapanyagokra, nukleozid-trifoszfátokra van szükség. A cirkuláris baktérium-DNS replikációja egy szigorúan meghatározott pontban, a replikációs origóban kezdődik. A *helikáz*nak nevezett enzim kibontja a kettős spirált, elszakítja a purin- és pirimidinbázisok között létesült hidrogénhidakat. Ahol a szálak szétválnak, két replikációs villa képződik, ezek bázissorrendje szolgál mintaként az új szál szintéziséhez, amit a *DNS-polimeráz* enzim végez a sejtben rendelkezésre álló szabad alapanyagok felhasználásával. Minthogy a DNS kettős spirál antiparalel lefutású (az egyik szálon a foszfátcsoport a két dezoxiribóz molekulát 3' \rightarrow 5', a másikon pedig 5' \rightarrow 3' irányban köti össze), s a DNS-polimeráz csakis az 5' \rightarrow 3' irányban épít, csak az egyik szál gyarapodása történhet folyamatosan, a replikációs villától. Ezt a szálat nevezik vezető vagy *leading* szálnak, a másikat pedig utánkullógó, követő vagy *lagging* szálnak. Ez utóbbi szintézise nem a villánál kezdődik, hanem a villától néhány száz nukleotiddal odébb; e szál szintézise nem is folyamatos, kis átmeneti DNS-szakaszok, ún. Okazaki-fragmentumok jönnek létre, amelyek később egyesülnek. Érdemes még néhány ismertebb enzimet megemlíteni, amelyek részt vesznek a DNS replikációjában. Ahhoz, hogy a helikáz hozzáférhessen a hidrogénkötésekhez, előbb fel kell lazítani a DNS szuperhélixet; ezt a *giráz* enzim végzi. Az új szál felépítésének megkezdéséhez egy RNS-primerre van szükség, melynek szintézisét

a primáz segíti. A szintézis során fellépő hibák javítása a *DNS polimeráz III* feladata, a kisebb DNS-darabok összeragasztását pedig a *ligáz* végzi. Lenyűgöző sebességgel történik ez a replikáció, egyes baktériumokban másodpercenként 750 nukleotid rakódik fel egy-egy villa mentén. Csakúgy, mint minden szövegolvasásban, kódfejtésben, a DNS replikációjában is előfordulnak bakik, így sor kerülhet olykor egy-egy bázis hibás beillesztésére. Nem túl gyakori ez az eset – becslések szerint minden százezer bázisra jut csupán egy –, de ha nem történik meg a kijavításuk, akkor bizony a kicsiny hibák is komoly következménnyel járhatnak; működészavarok léphetnek fel, s akár el is pusztulhat a sejt. Később látni fogjuk, milyen mechanizmusok segítik a hibák felismerését és kijavítását.

7.1.2. Transzkripció és transláció

Miután megismerkedtünk azzal, miként konzerválódik a DNS-ben foglalt genetikai üzenet annak pontos replikációja révén, meg kell tárgyalnunk, mi is a DNS valódi szerepe a sejt életében. Mert az igaz ugyan, hogy a DNS tartalmazza a lényegi információkat, de ez a molekula nem vesz részt közvetlenül a fehérjeszintézisben. A benne tárolt információ más molekulákon keresztül jut érvényre: a **transzkripció** során a DNS átíródik RNS-sé, majd az RNS-be vésett üzenet a **transzláció** során kerül megfejtésre, fehérjékben való megjelenésre. (Két kivétel van: az RNS-vírusokról éppúgy RNS-ek íródhatnak át, mint a DNS-ről, a retrovírusok esetében pedig az RNS-ről – reverz transzkripcióval – DNS mintázódik.)

Az átöröklés egységei, a gének két fő csoportra oszthatók: a **struktúrgének** különböző fehérjéket kódolnak, a **regulátorgének** pedig az előbbieket működésük szabályozzák. Valamely élőlény genetikai információinak összessége adja a **genotípust**, s az, ami ebből megnyilvánul, tulajdonságok vagy működés formájában megjelenik, azt nevezik **fenotípusnak**. Ebben az alfejezetben azt az utat járjuk be, ami a genotípustól a fenotípushoz vezet.

Míthogy minden egyes struktúrgén valójában egy lineáris bázisszekvencia, amely egy meghatározott aminosavsorrendű fehérjét kódol, s mivel nincs két teljesen egyforma fehérje, ebből következik, hogy minden gén bázissorrendje különböző. A génekben a bázisok háromtagú tripleteket alkotnak, amelyek egy-egy aminosavat vagy láncterminációt határoznak meg. De – ismét említjük – az utasítás nem közvetlenül történik, hanem RNS-molekulák közbejöttével.

Az RNS abban különbözik a DNS-től, hogy egyszálú molekula, a benne levő cukor nem dezoxiribóz, hanem ribóz, s az egyik pirimidinbázist, a timint, uracil váltja fel benne. Ez utóbbi csere természetesen nem módosítja a genetikai kódot, hiszen az uracil is követi a szigorú párosodási szabályt: csak adeninhez kapcsolódik. A transzkripció eredményeként háromféle RNS keletkezik: hírvivő RNS (messenger,

mRNS), amely a DNS mintahű változata, a genetikai kód továbbítója, transzfer RNS (tRNS), amely az aminosavak szállítója, valamint riboszóma RNS, mely a fehérjeszintézis helyeül szolgáló riboszómák fő komponense. A mRNS nukleotid sorrendjét tekintve megegyezik a DNS értelmes szálának szekvenciájával. A tRNS szintén egy DNS kód kópiája, de struktúrája lényegesen különbözik az mRNS-étől; míg az előbbi egy hosszú kötélnek képzelhetjük el, az utóbbiban hidrogénkötések létesülnek ugyanazon RNS-szál egymástól néhány nukleotidnyi távolságra levő bázisai között, így csipketerítők szegélymintázatához hasonló hurkok (hairpin loop) jönnek létre, s az egész molekula egy háromlevelű lóherére emlékeztet. A középső lóherelevélen egy triplet található, amely nem más mint **antikodon**, az mRNS-en lévő kodonnal komplementer, azt felismerni, ahhoz kapcsolódni képes szekvencia. A molekula másik végén van az **aminosavkötő kar**. Minden tRNS-molekula csak egy bizonyos aminosavat tud magához kapcsolni, méghozzá olyat, amelyet térszerkezete megszab. Ha az mRNS kodonja AUG, akkor ehhez a szakaszhoz csak olyan tRNS kötődhet – a purin- és pirimidinbázisok szigorú párosodási szabálya szerint –, amelynek antikodonja UAC, s aminosavkötő karján az ennek megfelelő aminosav, példánkban metionin ül. A 20 aminosavhoz elvben húszféle tRNS-re lenne szükség, ez azonban nem így van, mert a négy bázis összesen 64-féle hármas kombinációt adhat ($4^3 = 64$); vannak aminosavak, amelyeket akár hat különböző triplet is felismerhet, ilyenek a leucin és a szerin, másoknak kettő vagy négy kodonjuk van, a metionint vagy a triptofánt viszont csak egy-egy kodon (AUG, illetve UGG) reprezentálja. De mégse 64 a tRNS-variációk száma, csupán 61, mert van három **nonszensz** kodon is, amelyekről később lesz szó.

Miként közli a DNS a sejtet az ő egy-egy szakaszának, génjének a kódját? A megfelelő helyen szétnyílik a kettős spirál, hozzáférhetővé válik a DNS-polimeráz számára, amivel elkezdődik a komplementer mRNS-szál szintézise. A DNS-nek csak egyik szála tartalmaz olyan értelmezhető utasításokat, amelyek mintául szolgálhatnak egy polipeptid szintéziséhez. Ezért az mRNS átíródása az ún. **antiszensz szálról** történik, s így egy olyan mRNS-molekula épül fel, amely azonos a másik szálal, az informatív **szensz** szállal. A transzkripciót egy óriási, komplex enzim, az **RNS-polimeráz** irányítja. Első lépésként az RNS-polimeráz felismeri a **promotert**, ami az átírásra kerülő gént közvetlenül megelőző DNS-szakasz. Ezen a helyen kezdi meg a polimeráz az RNS szintézisét, ami 5' → 3' irányba történik, a nukleotid építőelemek a DNS adta minta alapján követik egymást, csupán annyi az eltérés, hogy az adenint nem timin, hanem uracil komplementálja. Az RNS-szál gyorsan gyarapodik, másodpercenként 40 nukleotid kapcsolódik össze, az átíródott DNS pedig folyamatosan összezáródik, és visszanyeri kettős spirál szerkezetét. Az átírás végén a polimeráz egy másik utasításra leállítja az mRNS szintézisét, leválik a DNS-ről, és útjára bocsátja az mRNS-t.

A transláció során minden ehhez szükséges komponens – mRNS, tRNS, aminosavak – a riboszómákon gyűlik össze. Ezek a sejtorganelumok rRNS-ből és fehérjéből állnak. Elektronmikroszkópos felvételek és biokémiai kísérletek igazolták, hogy a riboszómáreszecskek két alegységből állnak (ún. kis és nagy alegységből), s amikor ezek összekapcsolódnak, olyan különleges, parányi műhelyt alkotnak, amelyben biztosítva van a fehérjeszintézis résztvevőinek működése. Megtapadási helyül szolgálnak mind az mRNS, mind pedig a tRNS számára, de biztosítják egyben a kiegészítő funkciókat ellátó enzimeknek is a megfelelő helyszínt. Az aktív anyagcserejű baktériumsejtekben e parányi műhelyek száma elérheti a húszezret, s mind azon munkálkodik, hogy összegyűjtse a fehérjeszintézishez szükséges alapanyagokat, biztosítsa a szintézis feltételeit, és indítsa újtukra a kész fehérjéket.

Nagyon rövid életűek azok az mRNS-molekulák, amelyek leválnak a DNS-ről, ezért minél előbb meg kell történni a bennük levő információ lefordításának, a transzlációnak. Baktériumokban szinte egymásba ér a transzkripció és a transzláció, azaz, még be sem fejeződik az mRNS lemásolódása, máris megkezdődik róla a megfelelő polipeptid lánc szintézise. Az mRNS rendszerint tartalmaz egy olyan, rövid szakaszt, amely a transzláció elkezdésére ad utasítást: ez a **start kodon**, ami csaknem mindig AUG (metionin), de kivételesen lehet GUG (valin) is.

Az mRNS a kis riboszómaalegység RNS-éhez kapcsolódik, majd kapcsolat jön létre a kis és a nagy alegység között. Ez utóbbin olyan helyek vannak, amelyek alkalmasak a tRNS-molekulák megtapadására; e molekulák szinte ugrásra készen várakoznak az aktív sejt citoplazmájában, s természetesen nem üresen, mert aminosavkötő karjukon már ott van a sejtben lévő készletből felvett, általuk specifikusan felvehető aminosav. A két riboszómaalegység közé szorított, s mintegy magnetofonszalagként folyamatosan továbbhaladó mRNS szolgál mintául a megfelelő antikodonokat tartalmazó tRNS-molekuláknak. A kodonnak megfelelő sorrendben felsorakozott tRNS-ek farkán aminosavak kerülnek szoros közelségbe, s közöttük a nagy riboszómaalegység által hordozott peptidil-transzferáz enzim peptidkötéseket létesít; miután létrejött a peptidkötés, a riboszóma üresen elbocsátja az illető tRNS-t, hadd keressen a citoplazmában újabb aminosavat, és adja át a helyét a mintának megfelelő sorban következő, aminosavval feltöltött tRNS-nek. A folyamat halad tovább, egyre hosszabb és hosszabb lesz a polipeptidlánc, egészen addig, amíg az mRNS-en meg nem jelenik a három, aminosavakat nem kódoló, nonszensz triplet (UAA, UAG vagy UGA) egyike, ami megálljt parancsol a szintézisnek; e tripleteket ezért **stop kodonoknak** nevezik. (Az ily módon szintetizált polipeptidlánccok még nem működőképesek. Fontos, poszttranszlációs események során veszik fel végleges konfigurációjukat, azt a harmadlagos szerkezetet, amely funkciójuk ellátásához szükséges. Egyesek összekapcsolódnak, másokban belső SH-kötések alakulnak ki – ebben a cisztein játszik kulcsszerepet –, ismét mások fémekkel vagy egyéb

kofaktorokkal alkotnak komplexeket, és vannak olyanok, amelyeket proteázok hasítanak megfelelő méretre. Mindez már a biokémia tárgykörébe tartozik.)

Bár a gének megnyilvánulása alapjaiban egyformán történik prokarióta és eukarióta mikroorganizmusokban, vannak különbségek is, elsősorban a transzkripció sejtbeni helyét és az mRNS leolvasását illetően. Mivel az eukariótákban a DNS a sejt-magban található, ott folyik az mRNS szintézise is, ennek át kell hatolnia a sejt-mag membránján ahhoz, hogy a riboszómához juthasson. Eukariótákban tehát nem mehet végbe egyidejűleg a transzkripció és a transzláció. Továbbá, a prokarióta gén – amit fentebb, az egyszerűbb érthetőség kedvéért nem hangsúlyoztunk külön – csak kódoló régiókból áll, az eukarióta viszont nem. Prokariótákban így szól az információ: KIS ALI SOK FÁT VÁG, azaz minden szó értelmes, és az üzenet folyamatosan olvasható. Eukariótákban az értelmes, kódoló szakaszok, az ún. **exonok** mellett vannak **intronok** is, amelyek nem mondanak semmit. Az előbb példaként hozott információ ezekben így szólhat: KIS *SWQ* ALI SOK *BHYC* FÁT VÁG, s amit dőlt betűvel jelöltünk, az értelmetlen szavakat, azok az intronok. Az ilyen gének transzkripciója először teljes formában megtörténik, az értelmes szakaszok éppúgy átíródnak, mint az értelmetlenek. Ezt követően az ún. **splicing RNS**-ek lépnek munkába: hurkokba rendezik az intronokat, majd megfelelő enzimek kivágják őket, és az exonokat sorrendbe varrják. Egy-egy eukarióta génen belül az intronok száma és mérete nagyon különböző lehet, olyanok is vannak közöttük, amelyek kódolnak valamit; éppen ez segítette funkciójuk megfejtését. S. cerevisiae-ben például olyan intront találtak, amely reverz transzkriptázt kódol, ami RNS-ről DNS-t átíró enzim, vagyis a sejt maga generálhat új DNS-szakaszokat saját maga számára; e szakaszok többsége természetesen csak bajt okoz, de ritkán evolúciós előnyt jelentő tulajdonságok kialakításában is szerepet játszhatnak ilyen folyamatok. Van olyan elmélet is, miszerint az intronok olyan DNS-készletet jelentenek, ami az evolúció során felhasználásra kerülhet, hozzájárulva a variabilitáshoz.

7.1.3. A fehérjeszintézis genetikai szabályozása

A génekről tehát fehérjemolekulák fordítódnak át, elsősorban enzimek, amelyek a sejt számára létfontosságú reakciókat katalizálják. Ha emlékezetbe idézzük azt a számot, miszerint az *E. coli*-nak mintegy 3000 génye van, s elgondoljuk, mily piciny az a sejt, amelyik ezt az óriási információtömeget hordozza, nyilvánvalóvá válik, hogy nem működhet egyszerre valamennyi gén. Mérési adatok is vannak arra vonatkozóan, hogy az egyes fehérjék (a **géntermékek**) nagyon változó arányban vannak jelen a sejtben; van, amikor egy-egy fehérje a teljes proteinkészletnek alig kimutatható töredékét adja, a másik pedig akár a 2%-os részarányt is elérheti. Valahogy tehát szabályozódik az, melyik fehérje szaporodjon fel és melyik nem – a sejt életciklusától és a környezet hatásaitól függően.

Erre a szabályozásra elvben két szinten van lehetőség: a transzkripció szintjén (amikor arra szól az utasítás, átíródjon-e az adott gén vagy se) és a transláció szintjén (amikor a már kész mRNS-molekulák lefordításának sebességét lehet változtatni). Mi most az előbbire hozunk példákat azért, mert a transzkripció szabályozás alapvető fontosságú, és ennek mechanizmusát részleteiben ismerjük.

Mint ahogy a baktériumok természetes környezetükben nagyon változatos tápanyagfélésekkel találkoznak, ezek hasznosításához gyakran kénytelenek új enzimeket szintetizálni. Ezt a feladatot a sejt géneinek ki- és bekapcsolásával oldja meg, és csak akkor gyárt érdemleges mennyiségű mRNS-t, ha megfelelő külső szignálok érzékelt. E szignálokat induktoroknak, a jelenséget (gén)indukciónak nevezik. Az *E. coli* sejtjei például csak akkor szintetizálnak β -galaktozidáz enzimet, ha az induktorként szereplő laktóz felbukkan a környezetben. (A laktózt csak úgy tudja hasznosítani a sejt, ha azt a β -galaktozidáz két monoszacharidra, glükózra és galaktózra hasítja.) A laktóz jelenlétében aktivizálódik a β -galaktozidázgén: mRNS íródik át róla. A laktóz és a gén közötti kapcsolat azonban nem közvetlen. Létezik ugyanis egy specifikus represszormolekula, amely – nyugalmi állapotban – a β -galaktozidázgén elején levő, operátor régióhoz kötődik; ez a kötődés megakadályozza az RNS-polimerázt abban, hogy megkezdje a β -galaktozidáznak megfelelő mRNS építését. Ha azonban a laktóz hozzákapcsolódik a represszorhoz, akkor ez utóbbi nem tud az operátorhoz kötődni, s beindul az mRNS-szintézis. Az *E. coli*-ban két másik, a laktózanyagcserében részt vevő gén kapcsolódik a β -galaktozidázgén után: a permeázgén (amely a laktóz felvételét megkönnyítő enzimet kódolja) és a tiogalaktozidáz-transzacetilázgén (amely a laktózhoz hasonló, de az anyagcserében zavarokat okozó anyagok eltávolítását végző enzim szintéziséért felel). Mindhárom enzim egyetlen óriási mRNS-ről fordítódik át, ha tehát laktózt észlel a sejt, akkor mindhárom fehérje szintézise beindul. Az egész szabályozórendszert (a regulátorgént, az operátort és azokat a szomszédos struktúrgéneket, amelyek egyetlen mRNS-sé íródnak át) operonnak nevezzük.

Tudjuk, hogy az adott mRNS szintézisét végző RNS-polimeráz a struktúrgént megelőző DNS-szakaszhoz, a promoterhez kapcsolódik. A represszort megkötő operátorszekvencia mindig az operon promoterrégiója közelében található, s a laktóz-operon rendszerben a represszor kapcsolódása megakadályozza az RNS-polimeráz DNS-hez való kötődését. Ezt a szabályozási módot hívják negatív kontrollnak. Ha a laktózsztint kimerül, megszűnik a hasznosítását katalizáló enzimek szintézise oly módon, hogy nem kötődik már laktóz a represszorhoz, így az felszabadul a béklyó alól, rákapcsolódik és újra blokkolja az operátort, minek következtében leáll az mRNS-szintézis.

Van mód az ún. pozitív szabályozásra is. Ha például a baktériumsejtben nincs jelen elegendő mennyiségű glükóz, és éheznek a sejtek, akkor megnő a cAMP (ciklikus adenozin-monofoszfát) szintje. A cAMP ezután egy (c)katabolit aktivátor pro-

tein (CAP) néven ismert DNS-kötő fehérjéhez kapcsolódik, komplexet alkot vele. Ez a komplex képes kötődni a di- és oligoszacharidokat lebontó (ezáltal glükózt szolgáltató) enzimek szintézisét kódoló gének promoteréhez, ami lehetővé teszi a transzkripció megindulását.

7.2. A mikroorganizmusok genetikai változékonysága

Eddig a hűségről volt szó, s talán sikerült bizonyítani, milyen nagy jelentősége van a biológiában a genetikai anyag konzervativitásnak. Nem túlzás, ha azt mondjuk, ez a konzervativitás teszi lehetővé az élet és a fajok fennmaradását. Ha azonban csak az állandóság érvényesülne az öröklődésben, akkor ma is az ősbaktériumok világában élnénk, amit valójában nem szeretnénk. Szerencsére nem fenyeget ez a veszély, mert az örökítő anyag lassú, de állandó változáson megy keresztül: ez a változás az evolúció belső hajtóereje. Amikor evolúcióról beszélünk, nem szabad csupán évmillióknak gondolnunk, s az se baj, ha ilyenkor nem mindig a *Dyno-* és *Brontosaurusok* jutnak az eszünkbe, hiszen az evolúció sokszor szinte a szemünk előtt zajlik; olykor az ember jóvoltából, aki egyre gyakrabban és egyre eredményesebben válik részesévé a Teremtésnek. Éppen a mikrobiológusok találkoznak a legtöbbször a jelenidejű evolúcióval. Amikor új, antibiotikumrezisztens baktériumok lépnek fel, vagy új kórokozóváltozatokat észlelünk, amelyek megtámadják a korábban ellenálló növényeket és állatokat, vagy amikor mi magunk állítunk elő az iparban vagy a mezőgazdaságban használható mikroorganizmus törzseket, akkor testközelbe kerültünk az evolúcióval.

A mikroorganizmusok genomjában bekövetkező változások lehetnek vertikálisak; ezt a megjelölést abban az esetben használjuk, amikor a szülői sejtől másik fél közreműködése nélkül létrejött utódsejt genetikai kódja valamiben különbözik a szülőétől. Történet genetikai változás horizontálisan is, mikroorganizmusok közötti információcsere vagy egyoldalú információátadás következtében.

7.2.1. Mutációk és egyéb vertikális irányú változások a genomban

A változásokat a mindennapos gyakorlatban a fenotípus szintjén észleljük, valamilyen új tulajdonság egyszer csak megjelenik, vagy egy korábban meglévő eltűnik. Közönségesen előforduló jelenség az, amikor egyetlen sejtől származó, klónként fenntartott gomba- vagy baktériumtörzs hirtelen elveszíti a rá jellemző színanyagot, vagy valamilyen tipikus metabolitjának termelését hagyja abba; a változás lehet „nyereséges” is, azaz új pigmentek és új metabolitok jelentkezhetnek. Ezek a fenotípusos változások végső soron a genotípusban bekövetkezett változások következményei. A

genomban foglalt információ bármely állandó, öröklődő megváltozását – legyen az akár kicsiny, akár jelentős mértékű – **mutációnak** nevezzük. Szigorúan molekuláris szinten nézve a dolgot úgy mondjuk, hogy a mutáció a DNS bázisszekvenciájában bekövetkezett változás; bázisok kiesése, hozzáadódása vagy átrendeződése.

Azt a mikroorganizmust, amelyik természetes, nem-mutált tulajdonságokkal bír, vad típusnak vagy vad törzsnek nevezzük. Velük szemben a mutáns törzsek valamilyen megváltozást mutatnak a morfológiai bélyegek, a táplálkozási igények, a különböző kémiai szerekkel szembeni ellenállóság, a hőmérsékleti igény, valójában csaknem bármelyik, gének által irányított tulajdonság tekintetében. A mutánsok kiválóan alkalmasak arra, hogy nyomon kövessük rajtuk a genetikai változásokat. Legkönnyebben ún. anyagcseremutánsokat, vagy antibiotikum-rezisztens mutánsokat lehet találni. A legtöbb mikroszkopikus gomba például aminosav-**prototróf**, azaz valamennyi aminosavat önállóan szintetizálja, egyszerű szénhidrátok és szervesetlen nitrogénforrás birtokában: ha azonban néhány tizezer telepet aminosavakat nem tartalmazó táptalajra viszünk (ami nem boszorkányság az ún. replikalemezelés segítségével), akkor mindig fogunk találni egy-két olyan változatot, amelyiknek egyik vagy másik aminosavra szüksége van, arra nézve **auxotróf**. Ugyanezzel a módszerrel könnyen kiszűrhetünk vitaminokra és nukleotidokra auxotróf mikrobákat vagy peszticid- és antibiotikum-rezisztens baktériumokat, gombákat.

A mutáció – eredetét tekintve – lehet spontán vagy indukált. A spontán mutáció a DNS-ben bekövetkező véletlenszerű változás, ami a DNS-replikáció hibáiból adódik, vagy a természetes (kozmosz) háttér sugárzás következménye. A spontán mutáció gyakorisága élőlénytől és tulajdonságtól (az adott DNS-szakasz mutációs hajlandóságától) függően változik 10^{-5} (nagy gyakoriság) és 10^{-10} (kis gyakoriság) értékek között. Mikroorganizmusok populációiban még ez utóbbi változások is észlelhetők, állati vagy növényi populációkban viszont a nagy gyakoriságú mutáció tettenérése sem könnyű.

Indukált mutációt valamilyen ismert **mutagénnel** végzett kezelések váltanak ki. A mutagének olyan fizikai vagy kémiai ágensek, amelyek képesek a DNS-ben replikációs hibákat okozni. Megfelelően kiválasztott és helyesen alkalmazott mutagénekkel szinte kívánság szerint lehet morfológiai és anyagcseremutánsokat létrehozni, s ezekkel alapvető genetikai felismeréseket eredményező kísérletek folytathatók.

A kémiai mutagének közül az **akridinfestékek** hatása abban nyilvánul meg, hogy a DNS-ben egy vagy több bázispár kivágódhat, esetleg inszertálódhat (beékelődhet), ezáltal ún. „frameshift” következik be, vagyis eltolódik a DNS olvasási kerete, megváltoznak a kódszavak határai, s végső soron módosul a polipeptidlánc aminosavsorrendje. A **nitrogénbázis-analógok** (például az 5-brómdeoxiuridin és a 2-aminopurin) a DNS-ben lévő természetes bázisok analógjai, képesek a nukleinsavba beépülni, és hibás bázispárosodást okozni. Az **alkilezőanyagok** (főként az

etil-metil-szulfonát és az N-metil-N'-nitro-N-nitrozoguanidin) rendkívül veszélyes, de igen hatékony mutagének. Működésük eredményeként deléciók, tranzíciók (ilyenkör valamelyik pirimidin-purin bázispár helyét egy másik pirimidin-purin pár foglalja el), transzverziók (amikor pirimidin-purin párt purin-pirimidin párosodás vált fel) és frameshift-mutációk történnek. A **salétromossav** az adenint hipoxantinná, a citozint pedig uracillá dezaminálja, minek következtében komoly párosodási zavarok történnek, hiszen a hipoxantin nem timint, hanem citozint, az uracil pedig nem guanint, hanem adenint fog kötni.

A fizikai mutagének elsősorban sugárzások: ultraibolya-, gamma- vagy röntgen-sugárzások. A nagy energiatartalmú gamma- és röntgensugarak szabadgyököket gerjesztenek a sejtben, s mert a DNS igen sérülékeny, ezek az aktív gyökök nehezen javítható töréseket okoznak benne. Az ultraibolya sugárzás hatására a DNS azonos szálán egymás mellett levő bázisai között rendellenes kötések alakulnak ki, ily módon főként pirimidin dimerek keletkeznek, amelyek megzavarják a normális replikációt. A besugárzás hatékonysága annak erősségétől és tartamától függ. Nagyadagú sugárzás végzetes lehet, a kisadagú viszont inkább kedvez a túlélésnek, s a túlélők között ilyenkor gyakran jelennek meg mutánsok.

Ismerünk nagy mutációkat, amelyek olykor egy-egy teljes kromoszómát érintenek, és pontmutációkat, amelyek egyetlen bázis módosulására korlátozódnak. **Deléciónak** nevezzük azt az eseményt, amikor a DNS-ből kisebb vagy nagyobb szakasz kiesik, **inszerciónak** pedig azt, amikor kisebb-nagyobb szekvenciák beékelődnek a DNS-száiba; az **inverzió** két vagy több nukleotid-kivágódásával, majd fordított irányban történő visszahelyeződésével jön létre, a **transzlokáció** pedig az az eset, amikor néhány nukleotid, netán valamely gén- vagy kromoszómáreszlet a genom egy másik régiójára helyeződik át. Annak megértéséhez, milyen hatással van a DNS akár piciny módosulása a sejtre, emlékezzünk a szigorú transzkripció és transláció szabályokra; a kód megváltozása azzal jár, hogy módosul a géntermék, a polipeptidlánc aminosavsorrendje, így megváltozik a fehérje struktúrája, s e megváltozott struktúra bizony többnyire a funkció elvesztésével vagy jelentős hatékonyságromlással jár. A legtöbb mutáció káros hatással van a sejtre, diszfunkciót, akár pusztulást is okozhat. Vannak azután semleges mutációk, amelyek nem járnak fenotípusosan észlelhető változással, s egy kicsiny része a mutációknak előnyös: az ezeket hordozó vonalak kedvezőbb helyzetbe kerülnek az evolúciós versenyben, és előbb-utóbb felszaporodnak.

A mutációk fenti csoportosítása a fizikai változás alapján történt: e fizikai változások módosíthatják is, meg nem is a génterméket. Ezért a mutáció eredményét is meg kell vizsgálni, s ha ezt nézzük, akkor megkülönböztetünk **misszensz** mutációt, ami háromféle következménnyel járhat: 1) hibás, nem funkcionáló fehérje fordítódik át; 2) módosult, de működőképes fehérje keletkezik; 3) nem történik lényeg-

ges változás a fehérje működésében. Lehet a mutáció **nonszensz** is, amikor az egyik, eredetileg aminosavat kódoló triplet stop kodonra alakul, s megállítja a fehérje translációját; ez csaknem mindig működésképtelenséghez vezet. A **csöndes mutáció** olyan bázismódosulás, ami nem jár aminosavváltozással (emlékezzünk azokra az aminosavakra, amelyeket akár hatféle triplet is kódolhat!) **Visszmutálásról** akkor beszélünk, ha egy, a fenotípus szintjén észlelhető változás visszaalakul, helyreáll az eredeti állapot. Ilyen helyzet vagy úgy alakulhat ki, hogy a már mutált gén **revertál**, visszaáll az eredeti bázissorrendje, vagy olyan **szuppresszor mutáció** következik be a genomban, amelynek eredményeként kompenzáció történik, amely kiegyenlíti a korábbi hibát, és helyreáll az eredeti funkció. Ismeretesek **hőmérséklettől függő mutációk** (más terminológia szerint **feltételesen letális mutációk**): egyes mutáns baktériumok ugyanúgy növekednek 30 °C hőmérsékleten, mint vad típusú szülő törzseik, de 40 °C-on már elpusztulnak; ezekben olyan mutáció történt, amelynek következtében a mutáns fehérje (enzim) csak a kisebb hőmérsékleten képes elvégezni feladatát, a nagyobb hőmérsékleten denaturálódik.

Korábban már említettük, hogy a DNS replikációja során működik egy próbaolvasás és a feltárt hibák javítására is sor kerül, mely folyamatokban a DNS polimeráz III nevű enzim játszik döntő szerepet. Ez az enzim azonban nem ismer fel minden hibát, s mert a DNS-ben bekövetkezett változások tényleg életveszélyesek, a sejt egyéb mechanizmusokat is kifejlesztett ezek felismerésére és korrigálására. Olyan speciális enzimrendszerek alakultak ki az evolúció során, amelyek egyszerűen képesek a hibák felkutatására és elhárítására. Ha például ultraibolya-sugárzás károsítja a DNS-t, ezt a **fotoaktiváció** vagy a **fényt igénylő repair** mechanizmus javítja. Ennek működéséhez látható fényre van szükség, valamint egy DNS-fotoliáznak nevezett fényérzékeny enzimre, amely észleli, majd hozzátapad a károsodott részekhez, azokhoz, amelyekben rendellenes pirimidin kötések alakultak ki. Ha ez az enzim fényt absorbeál, akkor megfelelő mennyiségű energiához jut, és elbontja a káros kötéseket. Ez a mechanizmus azonban csak viszonylag kevés károsodást tud korrigálni, a kiterjedt, ultraibolya-sugárzás által okozott hibák megmaradnak.

Más rendszer az, amelyben az ún. **öngyilkos enzim** dolgozik. Ez a megváltozott guanin molekulákról választja le az oda nem illő csoportokat. Egészen különlegesen működik, másként mint a többi katalizátor, mert miután teljesítette küldetését, saját magát is elpusztítja, s így nem használható fel a következő reakció felgyorsításában.

Különböző enzimegyüttesek munkálkodnak azon, hogy eltávolítsák a nem megfelelő bázisokat, s alkalmasakkal helyettesítsék őket. Ezt a mechanizmust **kivágásos javításnak** nevezik. Először az enzimek a hiba helyén elbontják a cukorfoszfátlánc és a bázisok között létesült kötést, más enzim eltávolítja a hibás bázist, itt egy üres hely marad, ami a szabályos DNS-replikáció során töltődik fel. Ez a javító rendszer a hibásan illeszkedett bázisokat is beméri.

Az RNS-genomú mikroorganizmusok (köztük közegészségügyi, állategészségügyi vagy növénykórtani szempontból fontos vírusok) három nagyságrenddel változókényabbak, mint a DNS-genomú élőlények. Ennek az az oka, hogy az RNS-replikációját irányító enzimek nem képesek arra a próbaolvasásra, amit a DNS-polimeráz el tud végezni, és más, a fentiekben említett DNS-javító mechanizmusokhoz hasonló RNS-repair rendszer sem ismeretes.

A **biológiai mutagenézis** transzpozonok segítségével történik. Ezekről a mobilis genetikai elemekről később még ejtünk szót, most azonban csak a mutációk kiváltására történő felhasználásukról szólnunk. A transzpozon mutagenézis lényege abban áll, hogy a vizsgált mikroorganizmusba olyan transzpozon-konstrukciót juttatnak be, amely valamilyen antibiotikum-rezisztenciagént hordoz. Ha ez a konstrukció beépül a befogadó sejt genomjába, akkor az is rezisztenssé válik, s így – megfelelő táptalajra kivenve – bizonyítható lesz a DNS-szakasz bevitelének sikere. A transzpozonok különböző helyeken inszertálódhatnak a befogadó sejt genomjába, s ha a beépülés éppen egy génbe történik, akkor az a gén működésképtelenné válik, funkcióvesztés következik be, ami szelektív táptalajon könnyen észlelhető. A szóban forgó gén helye (azaz a transzpozon beépülésének a helye) pedig nukleinsav-hibridizációval (a transzpozont használva próbaként) és restriktív endonukleázokkal végzett DNS-emésztéssel visszakereshető, maga a gén izolálható. Az is nagy előnye a transzpozon mutagenézisnek, hogy nem végez olyan nagy rombolást a genomban, mint a fizikai és kémiai mutagének, nem okoz ellenőrizhetetlen járulékos mutációkat.

Még finomabb módszer a **helyspecifikus mutagenézis**, amit gének működésének megfejtésére vagy a működés nagyon érzékenyen célzott megváltoztatására használnak. Ismert nukleotid sorrendű (úgy is mondják: ismert szekvenciájú) géneknek elő lehet állítani a szintetikus kópiáját, s a szintézis során e kópiában tetszés szerint meg lehet változtatni egy vagy több nukleotidot, amivel vagy a gén szabályozó régióit vagy a génről származtatható fehérje egy vagy több aminosavját módosítjuk. Ha az ilyen, finoman módosított kópiát visszajuttatjuk a gazdasejtbe (olyanba, amelyben előzőleg működésképtelenné tettük a vad típusú gént, vagy éppen a módosított kópia bejuttatásával inaktíváljuk azt), akkor tökéletes pontossággal megállapítható, mérhető lesz a mutáció okozta fenotípusos változás.

Mikroszkopikus gombákban a mutáció különös eseteként tartjuk nyilván a kromoszómaátrendeződéseket. Pulzáltatott mezejű elektroforézis segítségével elválaszthatók a 0,2 és 10 Mb közötti kromoszómaméretű DNS-molekulák, s mert a gombakromoszómák általában ebbe a mérettartományba esnek, ezzel a módszerrel objektíven meg lehet határozni a legtöbb gomba **kariotípusát**. A kiterjedt kromoszómaátrendeződések **kariotípus polimorfizmusban** nyilvánulnak meg, ami magyarul azt jelenti, hogy adott faj egyedekben a kromoszómák száma és mérete nagyon különböző lehet. A lágyszárú növényeken edénynyaláb-megbetegedést okozó

Fusarium oxysporum különböző törzsein végzett összehasonlító vizsgálatokban például azt találták, hogy e faj egyes törzsei 6, mások akár 15 kromoszómát hordoztak, a genom nagysága pedig 15 és 40 Mb között változott. Ezek az óriási különbségek természetesen a fenotípusban is visszatükröződtek: a kariotípus polimorfizmus nagy telepmorfológiai változatossággal és a gazdanövény-affinitás sokszínűségével párosult. Gombákban sem általános azonban a **kromoszóma polimorfizmus**. Azokban a fajokban, amelyekben szabályosan ismétlődő esemény a szexuális rekombináció és az ezzel járó meiózis, nem fordulhat elő az előbb bemutatott variabilitás. Ez teljesen érthető, hiszen a meiózisban felismerhetővé válnak a kromoszómadifferenciák, ha a méretekben és a számban nagy különbségek vannak, akkor nem találják meg egymást a homológ kromoszómapárok, s így eltűnnek, szelektálódnak a „deviánsok”. Sok olyan gombafaj van azonban, amelyik csak ritkán vagy soha nem hajlandó szexuális aktusra, ivaros rekombinációra (ilyen a példaként felhozott *F. oxysporum* is), így ezekben konzerválódhat a kromoszóma polimorfizmus. Elektroforetikus kariotípus elemzéseknek köszönhetjük annak felismerését is, hogy mikroszkopikus gombákban gyakoriak a **szám feletti kromoszómák**. Valamely kromoszóma akkor tekinthető szám felettinek, ha adott faj optimális körülmények között tenyésztő, egyforma és egyformán életképes egyedek egyikében jelen van, másikából hiányzik ez a kromoszóma. A szám feletti kromoszómák hordozhatnak olykor az egyedre nézve értékes információt is: a *Nectria haematococca* borsóra patogén törzseinek szám feletti kromoszómáján olyan gén található, amely a borsó által termelt fitoalexin (gombaellenes anyag) lebontását végző enzimet kódol, míg a borsóra nem-patogén törzsekből hiányzik ez a kromoszóma, s ezek a törzsek egyben a fitoalexin-lebontó képességnek is híjával vannak.

Sok egyéb, biológiailag fontos tulajdonság (toxintermelő képesség, antibiotikum-produkció) megléte vagy hiánya is magyarázható volt genomi átrendeződésekkel és az ezzel járó kromoszóma polimorfizmusokkal. Ilyen eseményeket abiotikus stressz (hőkezelés vagy tápanyaghány) éppúgy kiválthatnak, mint genetikai beavatkozások, például idegen DNS-szekvencia bevitelle. Kromoszómaátrendeződést okozhatnak azok az ismétlődő DNS-szekvenciák is, amelyekről később még szólnunk.

Mind az eukarióta, mind a prokarióta mikroorganizmusokban vannak olyan, a kromoszómáknál lényegesen kisebb, ún. extrakromoszómás örökletes elemek, amelyek megléte vagy hiánya (elvesztése) a fenotípus megváltozásával járhat. Ezek közül legismertebbek a **plazmidok**, amelyek önállóan replikálódó kicsiny DNS-molekulák, és fontos tulajdonságok kódját hordozhatják. Nagyságuk 1 és 500 kb között változik, de vannak az utóbbi értéket meghaladó, ún. óriásplazmidok is. A baktériumsejt ritkán tartalmaz négy-nél többet ezekből az elemekből, de kivételesen előfordulhat több tucat plazmid is egy-egy sejtben. Ezek az elemek többnyire cirkuláris szerkezetűek (bár előfordulnak lineáris formában is), és a baktériumokban

olyan lényeges tulajdonságokat kódolhatnak mint antibiotikum-rezisztencia, fertilitási faktor, virulencia, fémekkel szembeni tolerancia vagy antibiotikum-, bakteriocin- és toxintermelésre való képesség. Vannak továbbá ismeretlen funkciójú plazmidok, és egyre nagyobb jelentőségük van a mesterségesen előállított, genetikailag módosított plazmidoknak. A sejtosztódáskor véletlenszerűen kerülhetnek be az utódsejtekbe, különböző kombinációkban lehetnek jelen azokban, ami nagy eltéréseket okozhat a fenotípusban. Azokat a plazmidokat, amelyek képesek a gazdasejt kromoszómájába integrálódni, **episzóma**knak nevezzük. **Konjugatív plazmidok** azok, amelyek saját átvitelüket tudják irányítani.

A gombáknak is vannak plazmidjai, ezek azonban általában nem kódolnak olyan fontos tulajdonságokat, mint a baktériumok plazmidjai. A sejtben való elhelyezkedésük alapján megkülönböztetünk sejtmagi plazmidokat (ilyen a *Saccharomyces cerevisiae* 2 μ m-es plazmidja), citoplazmában lokalizálódott plazmidokat (például a *Phycomyces lactis* pGKL1 és pGKL2 plazmidjai) és mitokondriumban lévő plazmidokat. Ez utóbbiak lehetnek valódi mitokondrium-plazmidok (amelyek semmilyen szekvenciabeli hasonlóságot nem mutatnak a mitokondrium genomjával) vagy defektív mitokondrium-plazmidok, amelyek a mitokondrium DNS-ből kivágódott és amplifikálódott kis elemek (például a *Podospira anserina* α -SEN plazmidja). Nagyon kevés esetben ismert a gombákban található plazmidok szerepe. Az előbb említett, cirkuláris szerkezetű α -SEN plazmid, továbbá a *Neurospora*-fajokban talált, lineáris szerkezetű „kalilo” és „maranhar” plazmidok a gazdasejt mitokondriumának degenerálódását idézik elő, elszaporodásuk következtében – amihez 40–45 átöltési ciklusra van szükség – súlyosan károsodik ez a sejtorganelum, zavarok keletkeznek a sejtlélegzésben, a telepek szeneszcens állapotba kerülnek, végül elpusztulnak az érintett gombatörzsek; ezért kapták ezek a plazmidok az elmúlásra utaló szanszkrit szavakat. Ezzel szemben, a *K. lactis* pGKL plazmidjai hasznosak gazdájukra nézve, jelenlétük ugyanis killer-tulajdonsággal párosul, vagyis a plazmidot hordozó törzsek toxint választanak ki, és ezzel elpusztítják a környezetükben található, konkurensnek számító egyéb élesztőtörzseket.

Gombákban **kettősszalú RNS**-molekulák (más terminológia szerint kétfonális RNS-ek, rövidítve: dsRNSek) is előfordulhatnak, akár csupasz, akár enkapszidálódott formában. Az utóbbiak – morfológiájukat és felépítésüket tekintve – a vírusokra emlékeztetnek, ezért mykovírusoknak vagy vírusszerű partikulumoknak is nevezik őket. Tudni kell azonban, hogy ezek az elemek nem felelnek meg a Koch-féle posztulátumoknak, mivel a tisztított virion-preparátumokkal való visszafertőzési kísérletek eddig mindig eredménytelennek bizonyultak. Ettől függetlenül léteznek, szaporodnak, és elektronmikroszkóppal, gél-elektroforézissel vagy ultracentrifugálásal könnyen kimutathatók. Nem is ritkák, de azt, hogy jelenlétük valamilyen fenotípusos tulajdonságot képes befolyásolni, eddig csupán néhány esetben sikerült iga-

zolni. A gesztenye kéregrákosodását okozó *Cryphonectria parasitica* természetben előforduló, nem kórokozó, ún. hipovirulens izolátumai mind tartalmaznak dsRNS-elemeket, az ilyen izolátumok gyengén sporulálnak, a növényi szövetek bontására rendelt enzimszisztémájuk aktivitása mérsékelt, és pigmenttermelésük is rossz. Ezek a dsRNS-elemek anasztomózissal átvihetők az erősen virulens, súlyos betegséget okozó törzsekbe, néhány hét vagy hónap alatt azokat is legyengítik, s a rákos seb gyógyulni kezd. Az izolált és genetikai elemzésnek alávetett dsRNS-molekulákon két olyan gént is azonosítottak, amelyek összefüggésbe hozhatók gazdaszervezetük hanyatlásával: az egyik gén fehérjebontó enzimet, a másik pedig RNS-függő RNS-polimerázt kódol. A kukorica golyvásüszög-betegségét okozó *Ustilago maydis*-ban és egyes élesztőgombákban viszont a dsRNS jelenléte killer képességet kölcsönöz a gazdasejtek, olyan előnyös tulajdonságot, amely a fajtársakkal szemben fokozott versenyképességet jelent.

Rendkívül érdekesek azok a genetikai elemek, amelyek képesek a genom egyik részéről a másikra áthelyeződni. Prokariótákban háromféle ilyen elemet ismerünk: **inszerciós szekvenciákat** (röviden: IS-elemeket), **transzpozonokat** és egyes speciális fágokat. Most az első kettőről szólunk bővebben. Az IS-elemek nagysága 40 és >1000 bp közötti, végeiken fordítottan ismétlődő szekvenciák vannak, s képesek áthelyezni önmagukat a kromoszóma egyik részéről a másikra, vagy a kromoszómáról plazmidra, és fordítva is. Ezek az elemek általában okozhatnak változást a fenotípusban, hogy blokkolják azokat a géneket, amelyekbe beépültek, de poláros hatással lehetnek a szomszédos génekre is. Az IS-elemek semmi egyéb genetikai információt nem hordoznak az áthelyeződésükhöz szükséges **transzpozáz** kódján kívül. A transzpozonok már lényegesen nagyobb elemek, ezek nemcsak az IS-szekvenciákat és a transzpozáz kódját tartalmazzák, hanem további géneket is hordozhatnak. A transzpozíció lehet konzervatív vagy replikatív. **Konzervatív transzpozíció** esetén a transzpozon a genom egyik részéből kivágódik, s egy másik helyre inszertálódik; az új környezetben módosulhat a transzpozonban foglalt gének megnyilvánulása, és ez fenotípusos változást eredményezhet, de a szóban forgó gének kópiaszáma nem változik. **Replikatív transzpozíció** esetén a mobilis elem először megkettőződik, az egyik kópia az eredeti helyén marad, a másik pedig új helyre inszertálódik. Ilyenkor tehát halmozott genetikai változások történnek, nemcsak új környezetbe kerülnek bizonyos gének, hanem e gének dózisa is megnő, s e két hatás együttesen fokozott változékonyságot gerjeszthet.

A mikroszkopikus gombák genomjában – éppúgy, mint a magasabbrendű eukariótákban – vannak a genomban elszórt, ismétlődő DNS-szekvenciák, ún. **repetitív elemek**, amelyek lehetnek mobilis vagy stabilan integrálódott elemek. A mobilis elemek lehetnek **transzpozonok** (ezeket már megismertük), **retrotranszpozonok** (amelyek RNS intermedierek közbejöttével replikálódnak, retrovírusszerű

szerkezetűek van, de soha nem szabadulnak ki a sejtéből) és **retropozonok** (amelyek szintén RNS intermedierekkel keresztül szaporodnak, de híjával vannak a retrovírus-sztruktúráknak). További osztályozással a retropozonokon belül megkülönböztetnek **SINE-elemeket** (rövid, közbeszórt sejtmagi elemek) és **LINE-elemeket** (hosszú, közbeszórt sejtmagi elemek). Könnyű belátni, hogy a mobilis elemek épp úgy okozhatnak genetikai változást az eukarióta mikrobákban, mint azt a prokariótákban működő transzpozonok és IS-elemek. Az eukarióta mikrobákban azonosított ilyen elemek aktív voltát azonban eddig csupán néhány esetben sikerült bizonyítani, miközben sokkal több híradást hallhatunk inaktív repetitív elemek előfordulásáról. Változékonyságot azért ez utóbbiak is gerjeszthetnek, hiszen a genomban elszórt homológ repetitív szekvenciák között történhetnek egyesülések a mitózis során, az egyesülések mentén kromoszómátörések vagy új illesztések születhetnek, vagyis kromoszómaátrendeződések mennek végbe, amelyek, mint előbb láttuk, új tulajdonságok megjelenésével járnak és jól konzerválódnak az aszexuális mikrobákban.

7.2.2. Genetikai információ átvitele mikroorganizmusok között (Horizontális génátvitel)

A mutációk, a kromoszómaátrendeződések, az extrakromoszómás elemek és a repetitív elemek által hordozott információk elsősorban vertikálisan terjednek: szülőről utódra. Színesebben, de némiképp igazságtalanul szólva: apáról fiúra. S ez jól is van így; ha valaki megdolgozott a tökéletesedésért (vagy elviselte az erre szorító kényszert), adja át édes gyermekének. Vannak azonban olyan helyzetek – a mikrobiológiában is –, amikor mások is részesedhetnek az új tulajdonságokban, sokszor akár szándékuk ellenére (ez sem csak a mikroorganizmusok körében fordul elő). Az ilyen, **mikrobák közötti** tulajdonságátvitel történhet fajon belül és fajok között is – mint látni fogjuk –, elég változatos módokon. A genetikai információ átadása a mikroorganizmusok világában lehet egyirányú vagy kölcsönös, és érintheti a kromoszómában foglalt DNS-t is, az extrakromoszómás örökletes anyagot is, vagy mindkettőt egyidejűleg.

7.2.2.1. Genetikai rekombináció vírusok között

Egyetlen gazdasejtben nagyon sok kópiában szaporodhat az oda bejutott vírus, s ha egnél több típusú vírus fertőzte a sejtet, akkor ezek között rekombinációs események játszódhatnak le. A rekombináció általában rokon vírustörzsek között megy végbe. Bakteriofágok esetében egészen közönséges dolog a rekombináció, s azok a kísérletek, amelyeket ezen a területen folytattak, nagyon jelentős molekuláris genetikai felismeréseket tettek lehetővé. Nukleinsavszakaszok azonban nemcsak fágok, hanem növényi és állati vírusok között is kicserélődnek; ennek a folyamatnak tulaj-

donítható például az influenzavírusok nagy változékonysága, annak összes járványtani következményével együtt. Sokáig nem találtak bizonyítékot a növényi RNS-vírusok genetikai rekombinálódására, mára azonban sikerült tetten érni ezt az eseményt néhány közelrokon vírus esetében. Osztott genomú vírusok esetében az egyes komponensek – ismét csak rokontörzsek között – kölcsönösen kicserélődhetnek, amit **pszeudorekombináció**nak nevezünk. Létezik továbbá a **transzkapszidáció** és a **heteroenkapszidáció** jelensége is: az első fogalom azt a folyamatot takarja, amikor az egyik vírus nukleinsavja a másik, általában közelrokon vírus köpenyfehérjéjébe csomagolódik, a második pedig azt, amikor a köpenyfehérje egynél több vírustörzs kapszidjából, mozaikosan épül fel.

7.2.2.2. Információátadás baktériumok között

A baktériumok szexuális viselkedése alapvetően eltér az eukariótákétól. Vannak azonban az utóbbiakra emlékeztető elemei.

A **konjugáció** során speciális összeköttetések, ún. szexpiluszok létesülnek a **donor** (átadó, „hím”) és a **recipiens** (befogadó, „nőstény”) sejtek között, s ezen keresztül történik a plazmidok, kromoszómarészek vagy egyéb genetikai anyag átadása. Ez a folyamat tipikusan Gram-negatív baktériumokban játszódik le. A szexpilusz létesítését a donorban lévő konjugatív plazmid teszi lehetővé, ezt F^+ (fertilitási) faktornak is nevezik. A recipiens nem lehet távoli, fajidegen példány, sejtmembránja felszínén lenniük kell olyan felismerési helyeknek, amelyek hajlandóak a pilusz befogadására; a befogadásra való képességet F^- faktornak is mondják. Az *E. coli*-ban szinte járványszerűen terjed a genetikai információ átadására való hajlam: a donor (F^+) sejtek F -plazmidjának cirkuláris DNS-e megnyílik (úgy mondjuk: hasítás történik rajta), és az egyik DNS-szál átadódik a recipiensnek. Ezt követően a donorsejtben az átadott szál újra szintetizálódik az ún. guruló kerék („rolling circle”) mechanizmus szerint, és a recipiens sejt is elkészíti a befogadott információ komplementer szálát. Miután az F^- sejtek is szert tettek a plazmidra, ők is képesek lesznek szexpilusz fejlesztésére és donorfunkciók ellátására, s ettől kezdve méltóak az F^+ elnevezésre. Ebben a folyamatban azonban más donorgének nem kerülnek át. Vannak azonban **Hfr** (high frequency of recombination = nagy gyakorisággal rekombinálódó) donorok is, amelyek annak köszönhetik létüket, hogy az F -plazmid nemcsak konjugatív, hanem integratív is, és ezekben a törzsekben az F -plazmid episzómaként integrálódott a kromoszómába, méghozzá változatos helyekre. Nagy hatékonyságú horizontális génátvitelre képesek a Hfr-donorok, hiszen némelykor kivágódhat kromoszómájukból az F -plazmid, magával ragadhat géneket (ekkor már F^- -plazmid a neve), ezekkel együtt kerülhet át a recipiensnekbe, ahol autonóm módon replikálódva új tulajdonságokkal ruházhatja fel a befogadót. Az integrálódott F -plazmid azonban még ennél is többet tud: mobilizálhatja a donor kromoszómáját, s

annak egy része, olykor igen tekintélyes darabja átkerül az F^- sejtekbe. Ezt megelőzően azonban a donor megkettőzi az átadásra kerülő kromoszómaszakaszt a már emperere van szükség, de erre ritkán kerül sor. Fontos megjegyezni, hogy ez, a baktériumokra jellemző primitív szexuális aktus mindig egyoldalú: csak a donor ad át információt, s a befogadó egyszemélyben „anya” és rekombináns „utód”. Konjugációval nehézfémekkel szembeni ellenállóság vagy virulenciafaktorok (különleges toxinok és enzimek termelésére való képesség). Bölcs önmérséklő mechanizmus öröködik a Hfr-konjugáció fölött, s emiatt nem kell attól tartani, hogy valamennyi egyed ilyené válik. Általános ugyanis az a helyzet, hogy miközben nagy számban adódnak át kromoszómaeredetű gének, az integrálódott F -plazmid nem kerül át teljesen, így az F^- törzsek nem alakulhatnak át donorrá.

Gram-pozitív baktériumokban is működik konjugáció, de sokkal ritkábban figyelhető meg bennük ez az esemény, és mechanizmusa is eltér attól, amit fentebb megismertünk. **Konjugatív transzpozonok**at viszont több alkalommal is azonosítottak a Gram-pozitív baktériumokban. Ezek az elemek nemcsak a genom egyik régiójáról a másikkra képesek áthelyeződni, hanem – sejt-sejt kontaktust követően – átkerülhetnek más baktériumokba, s nem csupán rokontörzsekbe, hanem más fajok egyedeibe is.

A XX. században folytatott biológiai kísérletek egyik legszebbike derített fényt a **transzformáció** jelenségére. A *Streptococcus pneumoniae* baktériumnak – mely emberben tüdőgyulladást, egérben pedig vérmérgezést okoz – két törzse ismert: az S típus sejtjeinek poliszacharid védőburkuk van, az ilyen sejtek sima telepet alkotnak táptalajon, és virulensek; az R típus törzseinek nincs védőburkuk, telepük ránkos, és avirulensek. Ha S törzssel oltottak be egereket, akkor azok szepszis következtében hamarosan elpusztultak, az R törzssel történt oltást viszont túléltek; nem pusztultak el akkor sem, ha az oltást hővel előlt S törzsekkel végezték. Amikor hővel előlt virulens (S) törzs és élő avirulens (R) törzs keverékével oltották be az állatokat, tehát két olyan komponenssel, amelyek önmagukban nem okoztak bajt, ismét elpusztultak az állatok. Az ilyen egerek véréből visszanyert baktériumok poliszacharid burkot fejlesztettek, sima telepet alkottak és virulenseknek bizonyultak, vagyis a bevitt élő R törzs – az előlt S törzs valamilyen anyagát fölvéve – S törzssé alakult át: transzformálódott. A transzformációt – mint későbbi kísérletekben kiderült – az S törzs DNS-e okozta, vagyis a baktériumsejtek képesek környezetükből idegen, „nem élő” DNS-t felvenni és azt beépíteni saját genomjukba. Azóta sok egyéb baktériumfajról megállapították, hogy transzformálható, sőt más élőlényekbe, fejlett eukarióták sejtjeibe is sikerült idegen DNS-t bevinni, ezért a transzformáció szót ma tágabban értelmezzük. A transzformáció a természetben is megvalósul, de nem minden baktérium transzformálható, még laboratóriumi körülmények

között sem. Azokat a baktériumsejteket, amelyek képesek az idegen DNS felvételére, kompetens sejteknek nevezzük. A kompetencia genetikailag determinált tulajdonság, amely specifikus fehérjék (DNS-kötő membránfehérjék, sejtfalbontó autolizinek és nukleázok) meglétét és működését igényli.

A mikrobák közötti génátvitel harmadik fontos módját vírusfertőzések alkalmával fedezték fel. A vírusok, köztük a bakteriofágok szerencsére nem mindig pusztítják el gazdaszervezetüket, és az alatt a bensőséges együttlét alatt, amíg a megtámadott sejtben szaporodnak, integrálhatnak DNS-szakaszokat gazdájuk genomjából. Ezeket azután – mint vektorok – átvihetik más gazdaszervezetbe, ott leadhatják, e szakaszok beépülhetnek az új gazdába, s új tulajdonsággal ajándékozhatják meg azt. E folyamatot nevezzük **transzdukciónak**. Megkülönböztetünk **általános transzdukciót**, amikor az elbomló gazda-DNS-ből véletlenszerűen integrálódnak fragmentumok a fágba és **specializált transzdukciót**, amikor megkülönböztetett szakaszokat vesz fel a fág, és egyben saját genomjának fragmentumait visszahagyja. Különösen alkalmasak transzdukcióra a temperált fágok, amelyek profág állapotban beépülnek a gazdasejt genomjába, és attól kezdve az ő szaporodásuk a gazdasejt kontrollja alatt áll. Az ilyen sejt vonal olykor generációk hosszú során át nem szenved lizist, de lizogén állapotban van. Külső ingerek (pl. ultraibolya-sugárzás) indukálhatják a lizist, ami a fággenom kivágódásával kezdődik; ha a kivágódás pontatlan, akkor ragadja magával a fág a szomszédságában lévő baktériumgéneket. A profágot tartalmazó lizogén sejt immunis a többi, hasonló típusú bakteriofággal szemben, vagyis fenotípusa megváltozott a nem lizogén sejtekhez képest. Sőt, az ilyen sejtekben olykor az immunitáson kívül más fenotípusos változás is kimutatható; ezt a jelenséget **fág konverzió**nak nevezzük. Számos, a humánegészségügyben fontos szerepet játszó baktériumról, így a *Corynebacterium diphtheriae*ről, *Clostridium*-fajokról és a *Streptococcus pyogenes*ről kiderült, hogy virulens formáik azért ilyenek, mert toxint termelnek, s a toxintermelő képességre transzdukció révén tettek szert. Van adat antibiotikum-rezisztencia ily módon történt átvitelére is.

A konjugációra azt mondtuk, hogy főként fajon belül, közelrokon törzsek között megy végbe, a transzdukció viszont nem tiszteli a fajhatárokat, sőt genetikai információt közvetíthet az élővilág egymástól távol álló képviselői között, ami egészen különleges evolúciós ugrásokat tesz lehetővé.

7.2.2.3. Genetikai rekombináció gombák között

A gombák kiterjedt világában több olyan csoport is van (*Oomycetes*, *Ascomycetes*, *Basidiomycetes*), amelyekben az ivaros rekombináció szabályosan ismétlődő része az életciklusnak. Sok esetben különleges szaporítóképletek (oogónium, anteridium, aszkogónium, fogó-hifák, spermáciumok) állnak e folyamat szolgálatában. Az ivarsejtek egyesülése először csaknem mindig átmeneti vagy tartós dikariofázist ered-

ményez, amit azonban minden esetben sejtmagfúzió, diploid állapot létrejötte követ; a diploid mag osztódása, a **meiózisz** nagy hatékonysággal eredményezhet rekombináns utódokat a kromoszómapárok véletlenszerű eloszlása vagy crossing-over révén éppen úgy, mint a magasabbrendű eukariótákban. Az ivaros rekombináció esetén természetesen nemcsak a kromoszómákban tárolt információ cseréjére kerülhet sor, hanem az extrakromozómás elemekére is.

Élesztőgombák esetében egy-egy faj nem minden egyede hajlandó szexuális rekombinálódásra, ilyen esemény – természetes körülmények között – csak az ellentétes **párosodási típusba** tartozó egyedek között mehet végbe. A *Saccharomyces cerevisiae* morfológiailag tökéletesen egyforma haploid sejtjei vagy az *a*, vagy az α típusba tartoznak; ezek a sejtek specifikus jelmolekulákat, kicsiny polipeptid feromonokat bocsátanak ki, és receptorokat, szintén specifikusakat hordoznak felületükön, olyanokat, amelyek alkalmasak a másik partnertől érkező szignál fogadására. E kémiai kommunikáció eredményeként leáll a mitotikus osztódás, a sejtek felszínén glikoproteinek és agglutininek halmozódnak fel, amelyek segítik a partnerek összetapadását; az összetapadás után felszakadnak a sejtfalak, egyesül a két sejt, s újra szintetizálódik a sejtfal. Különleges képességük az élesztőgombáknak a **párosodási típus váltása**, ami azt jelenti, hogy a haploid élesztősejt időről időre átváltja párosodási típusát („ivarát”) *a*-ról α -ra vagy fordítva. Erre a különleges cserelehetőségre (amit helytelen biszexuális viselkedésként értelmezni) úgy kerülhet sor, hogy az élesztő genomjában csak egy aktív, párosodási típust szabályozó lokusz van, a MAT-lokuszt, és ez attól függően teszi „ α ” vagy „*a*” ivarúvá az adott sejt vonalat, hogy a lokuszba melyik párosodási típusra jellemző mobilis elem inszertálódott, az *a* vagy az α gén. Ennek a két mobilis gének a nem expresszálandó, ún. csöndes kópiája az élesztőgenom egy távolabbi részén helyezkedik el. Amikor párosodási típus-váltás van, akkor az egyik csöndes kópia (mondjuk az *a*) áthelyeződik a MAT-lokusztba, ahol génkicserélődéssel mintegy leváltja az ott addig működő ellentétes gént (példánkban az α elemet).

A fonalas telepszerveződésű mikroszkopikus tömlősgombák vegetatív sejtjei szintén haploidok. Vannak **homothallikus** fajok és **heterothallikusak**. Az előbbiek valódi hermafroditák, ugyanazon a telepen belül kölcsönösen megtermékenyíthetik egymást a női és a hím ivarsejtek. A heterothallikus fajokban azonban épp úgy ellentétes párosodási típusok azonosíthatók, mint az élesztők esetében. A *Neurospora crassa*ban a két párosodási típust **A** és **a** betűkkel jelzik; nitrogénhiány hatására protoperitéciumok jelennek meg mindkét típusú telepen, amelyekből fogó-hifák (trichoginek) nyúlnak ki; az egyik telep fogó-hifáival vesz részt az egyesülésben, a másik pedig valamilyen vegetatív sejtjével (mikrokonídiumával, vegetatív hifájával), de ezek is feromon kommunikáció révén ismerik fel egymást.

A párosodási típust sejtmagi gének határozzák meg. A legtöbb tömlősgomba-fűjban bipoláris a párosodási rendszer, vagyis a két párosodási típust egyetlen lokusz két „allél”-je határozza meg, szemben a bazídiumos gombákkal, amelyekre tetrapoláris rendszer jellemző: két lokusz multiplex allélokkal. A tömlősgombák esetében azért tettük idézőjelbe az allél szót, mert ezek a több kilobázis nagyságú szakaszok nukleotid-sorrendjüket tekintve teljesen eltérőek egymástól (evolúciós eredetük is valószínűleg egymástól független), emiatt helyesen **idiomorfoknak** nevezik őket. E gének DNS-kötő regulátor fehérjékkel rokon vonásokat mutató bázikus polipeptideket kódolnak, s e peptidek közvetlenül kötődnek a differenciálódást (protoperitécium megindulását), a feromonokat és a megfelelő glikoproteineket kódoló gének regulátor régióihoz, s így szabályozzák a transzkripciót.

Különösen nagy jelentősége van a szexuális rekombinációnak a növénykórokozó gombák új kórtani változatainak – a rasszoknak és a specializálódott formáknak – a kialakulásában. A burgonyavész okozó *Phytophthora infestans* két párosodási típusa csak a mexikói Toluca-völgyben fordul elő együttesen, s itt figyelték meg a legtöbb új rassz megjelenését. A gabonafélék rozsabetegségét okozó *Puccinia*-fajok is sokkal nagyobb rasszgazdagságot mutatnak olyan területeken, ahol megtalálhatók az ivaros rekombinációhoz szükséges köztesgazdáik (*Berberis*- és *Mahonia*-fajok), mint ott (például Ausztráliában), ahol kiirtották ezeket, vagy megakadályozták behurcolásukat.

Nagyon sok mikroszkopikus gomba elveszítette az evolúció során azt a képességét, hogy szexuális úton hozzon létre új, a szülői típusok valamilyen kombinációját mutató utódokat. Ennek ellenére az ilyen, ún. „imperfekt” gombák esetében is van mód a horizontális genetikai információcserére a heterokariózis és a paraszexuális rekombináció révén. **Heterokariózisnak** nevezzük azt az állapotot, amikor egyetlen közös citoplazmában genetikailag különböző sejtmagvak vannak. Ilyen állapot kialakulhat hifák vagy vegetatív szaporítóképletek egyesülését, **anasztomózisát** követően. **Parasexualitásnak** nevezzük azt a folyamatot, amelynek során a citoplazma és a sejtmagvak egyesülése (a **plazmo-** és a **kariogámia**) nem specializálódott sejtek között, illetve sejtekben történik, s a rekombináció, a szegregáció és a kromoszómaredukció **nem-meiotikus** úton megy végbe. A teljes paraszexuális ciklus három lépésből áll: 1) heterokariotikus állapot létrejötte; 2) heterozigóta diploid képződése és 3) mitotikus rekombináció és szegregáció. A heterokariózist nem mindig követi a sejtmagvak egyesülése, az előbbi állapot tehát tartósan fennmaradhat, osztódnak és szaporodnak az ilyen sejtek, amelyek mintegy „funkcionális diploidként” működnek. Van olyan eset is, amikor a heterokariotikus sejt nem növekszik, nem osztódik, de képes fenntartani és táplálni egy-egy parányi gombatelepet: ez az **egysejt-heterokariózis**, ami az átmeneti alkalmazkodás különleges formája lehet. Ha kialakul a heterozigóta diploid sejt a szomatikus sejtekben, ez számos nemzedéken keresztül stabil maradhat, s ez a stabilitás elősegítheti a mitotikus crossing-

over révén bekövetkező rekombinálódást. Más esetekben azonban a diploid állapot átmeneti csupán, kialakulását rögtön mitotikus haploidizálódás és spontán szegregáció követi. Ez a haploidizálódás non-diszjunkciókon (egy teljes homológ kromoszópapár kerül az utódsejtbe, vagy ilyen pár egyik tagja sem kerül át) és aneuploidian (a $2n$ és az n kromoszómakészlet közötti állapot, például $n + 1$, vagy $2n - 3$, és így tovább) keresztül, véletlenszerű kromoszómavesztés révén történhet, ami szintén rekombináns utódokat eredményezhet. Paraszexuális rekombináció előfordulhat ivaros szaporodásra képes és nem képes gombákban egyaránt, de ritka esemény, és adott faj nem minden egyede között megy végbe a folyamat. Működik ugyanis egy **vegetatív inkompatibilitás** elnevezésű mechanizmus, ami abban nyilvánul meg, hogy csak az azonos kompatibilitási csoportba tartozó törzsek képesek anasztomózisra és heterokariotikus állapot létrehozására. A kompatibilitás sejtmagi kontroll alatt áll, a kompatibilitási gének olyan sejtalkomponenseket kódolnak, amelyek jellemzőek egy-egy csoportra, s a csoport tagjai ennek alapján ismerik fel egymást. Behatóan tanulmányozott fajokban 6–10 ilyen gént azonosítottak, s egy-egy génnek számos allélja létezhet. Mint az élővilágban minden, a vegetatív inkompatibilitás sem fölösleges; ez az a mechanizmus ugyanis, amelynek segítségével az egyes törzsek, klónként szaporodva, megővják genetikai állományukat a felhígulástól, s így megőrzik őseiktől örökölt előnyös tulajdonságaikat (például egy-egy gazdaszervezetre specializálódott kórokozóképességet). Bizonyos kísérletekben hasznos lehet számunkra a vegetatív kompatibilitás jelensége, hiszen megfelelő laboratórium teszt-törzsek segítségével azonosíthatunk specializálódott kórokozókat költséges mesterséges fertőzések nélkül is. Az inkompatibilitás viszont akadályt jelent olyankor, amikor a biológiai iparban használatos gombatörzsek (pl. antibiotikumtermelők) hozamát szeretnénk keresztezéssel javítani. Az inkompatibilis törzsek csak különleges beavatkozásokkal, például protoplaszt fúzióval párosíthatók. E módszer kifejlesztésével, elméleti alapjainak tisztázásával világelsőséget vívott ki magának a József Attila Tudományegyetemen FERENCZY LAJOS és munkacsoportja.

Végezetül hadd szóljunk néhány szót a mitokondrium genetikáról. Tudjuk, hogy az eukarióta mikrobák organellumainak önálló genetikai programjuk van, s a bennük foglalt információ mitózis alkalmával nem a Mendeli-szabályok szerint oszlik meg az utódsejtek között. Minthogy a sejtorganelumok a citoplazmában helyezkednek el, az általuk meghatározott tulajdonságok öröklődését **citoplazmás öröklődésnek** nevezik. Élesztősejtek ún. *petit*-mutánsaival végzett kísérleteknek köszönhetjük a mitokondrium genetikára vonatkozó alapvető ismereteinket. Ezekben a mutánsokban a mitokondrium nem funkcionál, az ilyen sejtek nem képesek respirációra, de anaerob fermentációra igen; s aerob és anaerob körülmények között is apró telepeket fejlesztenek. A *petit*-mutánsok könnyen hibridizálhatók a vad típusú sejtekkel (amelyek aerob körülmények között nagy telepet képeznek), és ez a rend-

szer lehetővé teszi az utódok tömeges elemzését. Az élesztő mitokondrium genomja – amely mintegy ötszörte nagyobb az emberi mitokondrium genomjánál – kiterjedt nem-kódoló régiókat is tartalmaz (ezekben az adenin és a timin részaránya igen nagy), aminek pontos okát nem ismerjük. Mindenesetre a gombák eme sejtorganelumának genetikai szerveződése nem olyan gazdaságos, mint a magasabbrendű állatok mitokondriumának szerveződése. A gombák mitokondrium-DNS-ében elhelyezkedő gének tRNS-molekulákat, riboszóma RNS-alegységeket, citokróm *b*-t, valamint citokróm *c*-oxidáz, ATP-szintáz és NADH-dehidrogenáz alegységeket kódolnak.

HORNOK LÁSZLÓ

8. A MIKROORGANIZMUSOK MINT KÓROKOZÓK



8.1. Alapfogalmak

A természetben a mikroorganizmusok egyéb élőlényekkel – más mikroorganizmusokkal, növényekkel, állatokkal és az emberrel – kénytelenek megosztani életterüket, így változatos kölcsönhatásokban vesznek részt. Két különböző élőlény közötti kapcsolat a kölcsönhatás minősége szerint lehet **neutralizmus**, amikor a partnerek semmiféle hatással nincsenek egymás szaporodására vagy életbenmaradására, lehet **kommenzalizmus**, amikor az egyik fajra nézve előnyös, a másokra pedig közömbös az együttlét, lehet **protokooperáció**, amely primitív, kölcsönösen előnyös kapcsolat, **szimbiózis** (mutualizmusnak is nevezik), amely szintén kölcsönösen előnyös kapcsolat, de fejlettebb, **kompetíció** (versengés), amely egyik fél számára sem üdvös, **amenzalizmus**, amely az egyikre nézve hátrányos, a másokra közömbös vagy előnyös, **parazitizmus** (patogén viszony), amely az egyikre hasznos, a másokra ártalmas, és **ragadozó-zsákmány** kapcsolat, amely az egyik élőlényre nézve előnyös, a másokra pedig végzetes. Altípusai is léteznek egyik-másik említett kapcsolatnak, könyvünk kereteit azonban meghaladja ezek ismertetése; SZABÓ ISTVÁN MIHÁLY nagyívű munkáját ajánljuk a részletek iránt érdeklődők figyelmébe. A tudományos és gyakorlati szempontból egyaránt igen fontos patogén kapcsolatnak azonban mi is szentelünk egy fejezetet.

A **patogenitás** fogalmát minőségi kifejezésként használjuk: azt jelöljük vele, hogy valamely mikroorganizmus faj, pontosabban a faj bizonyos egyedei képesek betegséget okozni egy másik fajon, növény-, állat- vagy mikrobafajon, szabatosan szólva annak bizonyos egyedein. Így például a *Cercospora beticola* mint a cukorrépa kórokozója **patogén** erre a növényre, s a cukorrépa **gazdája** ennek a gombának. A *Bordetella pertussis* viszont (bár más kapcsolatban – az emberre nézve – kórokozó) **nem-patogén** (**apatogén**) a szarvasmarhára, vagyis ez utóbbi **nem-gazdája** a baktériumnak. Mennyiségi kifejezés a **virulencia**: ezzel a fogalommal a megbetegítő képesség kiterjedtségét (ez a szűk értelemben vett virulencia) és/vagy erősségét (ez a tágabb értelemben vett virulencia) jelöljük. **Virulens** az a kórokozó, amely általában ellenálló gazdaszervezetet is képes megbetegíteni: a *Phytophthora infestans* 1-es rassa **virulens** az *R1* rezisztenciagént hordozó burgonyafajtákra (amelyek viszont ellenállóak a 0-ás rasszal szemben), de **avirulens** az *R2* rezisztenciagént tartalmazó fajtákra. Erősen virulens az a kórokozó, amely más törzsekhez képest súlyosabb betegséget okoz ugyanazon a gazdán; a növénykórtanban az ilyen mikrobát **agresszívnek** nevezik, magát a tulajdonságot pedig **agresszivitásnak** mondják. **Obligát** patogéneknek nevezzük azokat a kórokozókat, amelyek csak gazdaszervezetükben vagy ezek sejt- és szövettényészetében képesek életben maradni, táptalajon nem tenyészthetők, **fakultatív** kórokozóknak pedig azokat, amelyek táptalajon tenyészthetők, a természetben általában szaprofiton életciklusuk is van,

de betegséget is okoznak alkalmas gazdán. A **biotróf** kórokozók élő szövetekben, a **nekrotrofok** elhaltakban tenyésznek (olykor ők maguk pusztítják el a szöveteket toxikus anyagcseretermékükkel). **Opportunistikus kórokozók** (másodlagos patogének) elnevezéssel illetik az orvosi irodalomban azokat a mikroorganizmusokat, amelyek normális, egészséges szervezetet nem képesek megtámadni, csak olyat, amelyiket valamilyen hajlamosító tényező (**prediszpozíció**) különösen érzékenyvé tesz; ilyen prediszpozíciót jelenthet a cukorbetegség, a HIV-fertőzöttség. Találkozhatunk még a **fertőzőképesség** és az **inváziós képesség** fogalmával is: az első a kórokozó ama képességére utal, hogy fertőzést tud kezdeményezni a gazdaszervezet valamely pontján, a második pedig azt jelzi, hogy a patogén mikroba a fertőzési pont környezetében lévő sejtekbe, sőt távolabbi szövetekbe is behatol.

A gazda oldaláról megközelítve **fogékony** az a szervezet, amelyiket adott kórokozó képes megbetegíteni, **ellenálló** az, amelyiket nem. A fogékony szervezet lehet **abszolút fogékony**, amikor tünetek jelennek meg, kifejlődik a betegség, és lehet **toleráns (tünetmentes)**; ez utóbbi esetben a fertőzés megtörtént, a kórokozó szaporodik a gazdában, de ennek semmi látható tünete nincs. Ugyanakkor az ilyen egyed a fertőzés **hordozója**, s képes a betegséget más egyedekre átvinni. A hordozó lehet **inkubációs hordozó**, amikor azért tünetmentes, mert a betegség még lapangási stádiumban van, és **konvaleszcens (lábadózó) hordozó**, amikor már tünetmentes, de még vannak benne fertőzőképes csírák. **Krónikus hordozók** azok az egyedek, amelyek gyógyultságuk vagy látszólagos gyógyultságuk után tetemes idő elteltével is fertőzést terjesztők; gyakran krónikus hordozók azok, akik tuberkulózis-, hepatitisz- vagy herpeszfertőzésen estek át. A helyhez kötött élőlények, mint a növények, **passzív hordozók**, velük szemben a mozgásképes élőlények **aktív hordozók** lehetnek. Sokféle módon definiálják a **vektorokat**; leghelyesebb, ha azokat az élőlényeket nevezzük így, amelyek más fajok egyedei, esetleg több különböző faj egyedei között terjesztik a fertőzést, s passzív és aktív hordozókról egyaránt képesek átvinni a kórokozókat egészséges egyedekre.

Növények esetében az ellenállóság lehet **preformált** (a fertőzés megtörténte nélkül jelenvaló) vagy **indukált** (a fertőzés váltja ki), kiterjedtségét tekintve pedig lehet **lokális** (csak adott szervre, szövetrészre érvényes) vagy **szisztémikus** (az egész szervezetre kiterjedő). Az ellenállóságot növények esetében a **rezisztencia** szóval jelzik, amely kifejezés alkalmas arra, hogy a magasabb rendű állatok esetében működő immunitástól megkülönböztesse ezt az ellenállóságformát. A preformált rezisztencia főbb elemei a kutinréteg, a primer mikrobaelenes anyagok (pl. izotiocianátok) és az anatómiai sajátosságok (pl. felálló levelek). Az indukált rezisztencia legáltalánosabb formája a **hiperszenzitív reakció (HR)**, amelynek körélettani jelentőségét jórészt magyar kutatók tisztázták (KIRÁLY ZOLTÁN, KLEMENT ZOLTÁN és munkatársaik). Ez a folyamat a megtámadott sejt gyors elhalásában nyilvánul meg. Első lépésként

a növényi sejt **receptor** molekulái érzékelik a kórokozótól származó idegen jelmolekulákat, gyűjtőnéven **elicitorokat**. Az elicitor és a receptor találkozásának valószínűleg legelső következménye a reaktív oxigénformák (szuperoxid, hidrogén-peroxid) aktiválódása, amit oxidatív stressznek neveznek. Ezek az oxigénformák károsítják a membránlipideket, felborul a membránok stabilitása, megindul az ellenőrizetlen ionkiáramlás, amely a növényi sejt halálához vezet, de egyben elpusztul a behatoló kórokozó is. A megtámadott sejtben lejátszódó HR eseményeit észlelik a szomszédos sejtek, ami egy sor további védelmi elem bekapcsolódásához vezet: sejtfalmegerősödéshez, mikrobaelenes hatású fitoalexinek termelődéséhez és stresszfehérjék (köztük glukánázok és kitinázok) szintéziséhez. Változatos anyagok működhetnek elicitoroként: kórokozó eredetű peptidek, poliszacharidok, lipidek, szerves savak, toxinok, de fémionok, szintetikus szerves anyagok is indukálhatnak választ, csakúgy, mint a növényi sejtfalat alkotó polimerek bomlástermékei. Mindebből következik, hogy a HR-t abiotikus stressz (mechanikai sérülés) is kiválthatja, ilyen értelemben tehát nem specifikus ez az esemény, mint ahogy nem specifikus a későbbi fertőzésekre gyakorolt hatása sem. Semmiképpen nem állítható tehát párhuzamba a HR az állati immunreakcióval.

Emberek és magasabb rendű állatok ellenállósága a **nem-specifikus ellenállóság**ból és a **specifikus immunválaszból** tevődik össze. A nem-specifikus ellenállóságot **fizikai** gátló tényezők (bőr, nyálkahártya, a légzőszervek csillangói, láz), **kémiai** gátló tényezők (fibronektin, lizozim, interferonok, bakteriocinek) és **biológiai** gátló tényezők (a normál endogén mikroflóra, fagociták) alkotják. E tényezők szintén preformáltak, azaz a mikroorganizmusok támadása nélkül is jelen vannak a szervezetben, fertőzés nélkül is működnek, illetve működésbe hozhatók. Ezzel szemben, az immunválasz a szervezetbe bekerült mikroorganizmusokkal és idegen makromolekulákkal szemben fajlagos ellenanyagok termelését jelenti; fertőzés vagy idegen anyagok mesterséges bevitele indukálja. Természetes immunválaszt fertőzés vált ki (ez **aktív immunitás**), vagy az anyától kapja az újszülött a placentán és a kolosztrumon keresztül (ez **passzív immunitás**). Mesterséges immunitást előlt vagy gyengített kórokozóval, annak valamilyen komponensével vagy anyagcseretermékével végzett **vakcinálással** lehet biztosítani (**aktív immunizálás**). Bizonyos típusú fertőzés vagy mérgezés ellen **passzív immunizálást** alkalmaznak: ilyenkor más élőlényben előállított ellenanyagot használnak a szóban forgó ártalom közömbösítésére.

Talán érzékelhető volt az eddig elmondottakból is, hogy gazda-patogén kapcsolatról szólva mesterséges dolog önmagában virulenciáról, agresszivitásról, fogékony-ságról vagy immunitásról beszélni, hiszen e fogalmak csak úgy nyernek értelmet, ha hozzágondoljuk a másik partnert, amire virulens, amivel szemben agresszív, vagy éppen amire fogékony, amivel szemben immunis vizsgálódásunk objektuma. Jobb tehát, ha mindig kölcsönhatásban gondolkodunk, és e kölcsönhatás minőségét

megjelölve azt mondjuk: **kompatibilis** az a kapcsolat, amelyben esély van a fertőzésre és a betegség kialakulására, **inkompatibilis** pedig az, amelyikben nincs esély.

Említsünk meg még néhány fogalmat! Ha olyan mikroorganizmus került a gazdaszervezetre (be), amelyik nem okoz fertőzést, mert egyáltalán szóba sem jöhet mint kórokozó az adott gazdán, vagy csupán rossz helyen landolt, s bár kórokozó, de a helytévésztés következtében semmi esélye nincs a behatolásra, akkor **kontamináció**ról beszélünk. A növényeken és az állatokon megtelepedő mikroorganizmus populáció lehet **átmeneti populáció** és **rezidens populáció**. Az előbbi nem is valódi megtelepedés, csak szennyeződés, jellemzője a könnyű felszámolódás. Az utóbbi azonban tartós, s kialakulásának az a feltétele, hogy a mikroorganizmus számára előnyös, a gazda számára pedig clónyos, közömbös, nehezen legyőzhető vagy legyőzhetetlen legyen; a rezidens populációt tehát kommenzalista, szimbiota vagy patogén mikrobák alkotják. **Endogén**nek nevezzük a szervezeten belül megtelepedett mikroflórát, **exogén**nek pedig a külső flórát. A kontamináció kifejezést használjuk akkor is, ha a gazdaszervezet nem magával a mikroorganizmussal, hanem annak **toxinjával**, mérgező anyagcseretermékével került kontaktusba. Nem helyes toxinfertőzésről beszélni. Toxinokra nem fogékonyak, hanem **érzékenyek** az élőlények, ha viszont ellenállóak, akkor magasabb rendű állatok esetében (toxinnal szembeni) **immunitással**, növények esetében pedig **toxinrezisztenciával** van dolgunk.

Soha ne tévesszük szem elől, hogy a kompatibilitás ritka, különleges, mondhatni kivételes alkalom. Szélsőséggént szokták ugyan emlegetni a *Phymatotrichum omnivorum* nevű mikroszkopikus gombát, amely 2000 virágos növényfajon képes betegséget okozni, de ez igazán a Guinness-rekordok közé illő eset. A gazda-patogén kapcsolatokra sokkal inkább jellemző a nagyfokú specificitás, az, hogy egy-egy kórokozónak csupán bizonyos fajalatti változatai, rasszai, patotípusai vagy törzsei képesek tömeges megbetegedést okozni valamely gazdán, s olykor e gazdának is csak térben és időben meghatározott populációján. Az influenzavírus A2-es törzsének ázsiai altípusa (H2N2) például csak az embert fertőzte, s valódi járványt főként Európában okozott, mégpedig a hatvanas évek populációjában. Jól szemlélteti az arányokat egy másik, a növénykórtanból hozott példa: az ismert fitopatogén gombafajok száma 10 000 körül van, de e hatalmas tömegből egy-egy növényfajon legfeljebb 20–30 képes betegséget okozni.

Jelen fejezetben azokkal a fegyverekkel foglalkozunk, amelyekre a mikroorganizmusok különleges csoportjai, a kórokozó mikrobák az evolúció során szert tettek, olyan fegyverekkel, amelyek képessé teszik őket más élőlények megtámadására, azok védekező rendszerének áttörésére. A **patogenitás (virulencia)-faktorokat** fogjuk áttekinteni. Most azonban csak a baktériumok és a gombák patogenitás-faktoraival foglalkozunk, csak az ő fegyvereiket, csak az ő cselvetéseiket mutatjuk be, a vírusokét nem, hiszen azok obligát patogének, egész életük, genetikájuk, szaporodásuk maga a patogenitás, s mindezekről szoltunk már könyvünk 3. fejezetében.

8.2. Baktériumok patogenitása

8.2.1. Magasabb rendű állatokra és az emberre patogén baktériumok

Ahhoz, hogy valamely baktérium fertőzést kezdeményezzen, **fertőzési kaput** kell találnia. Kapuként szolgálhatnak a bőr sérülései, az emésztőrendszer, a légzőszervek, az urogenitális traktus és a placenta. Egy-egy kórokozó általában egyféle kapun közlekedik, a *Mycobacterium tuberculosis* azonban a légző- és az emésztőrendszert egyaránt igénybe veheti, a *Corynebacterium diphtheriae* pedig nemcsak a garaton, de a bőrön keresztül is támadhat. Minden, az emésztőrendszeren keresztül behatoló baktérium alapfegyvere kell, hogy legyen a viszonylagos **savtűrés**.

Fontos faktornak számítanak a **megtapadást** biztosító anyagok és struktúrák, a glikokalix ragadós poliszacharidjai, az adhéziós fehérjék (pl. a *Streptococcus pyogenes* M-fehérjéje), a lipoteichosav és a fimbriák. Utóbbiak egészen specifikus kapcsolatok létesítésére képesek: az *Escherichia coli* fimbriáin levő kolonizációs antigének például megkülönböztetett affinitást mutatnak a bélhámsejtek receptorai iránt. A gazdaszervezet receptorai glikoproteinek vagy komplex lipidek lehetnek.

Egyes humánpatogén baktériumok olyan extracelluláris enzimeket választanak ki, amelyek rombolják a hámsejtek struktúráját, vagy a vérplazmára alapozott védekezési reakciót károsítják. A **mucináz** a sejtek nyálkás bevonatát bontja, a **kollagenáz** pedig a kötőszöveti rostokat roncsolja; az előbbi termelésére a *Vibrio cholerae*, az utóbbiéra pedig különböző *Clostridium*-fajok képesek. *Staphylococcus*-, *Clostridium*-, *Streptococcus*- és *Pneumococcus*-fajok fontos fegyvere a **hialuronidáz**, mely a sejtek közötti kötőanyagként szolgáló hialuronréteget emészt. Bizonyos enzimek a vér komponenseit támadják: a **koaguláz**, melyet *Staphylococcusok* termelnek, a plazma kicsapódását váltja ki, a **kinázok** (sztreptokináz, sztafilokináz) éppen ellenkezőleg, a fibrinhálózat kialakulását akadályozzák meg.

Még a szövetekbe bekerült baktériumoknak is szükségük lehet különleges képességekre a kolonizációhoz, mert igaz ugyan, hogy ott bőségesen találhatóak könnyen hasznosítható tápanyagok, de nem mindig a megfelelő arányban, s tudjuk: egyetlen létfontosságú elem hiánya is gátat szabhat a mikrobák szaporodásának. Gyakran kell például vashiánnyal megküzdeniük, mert az állati szervezetben ez az elem specifikus fehérjékhez (transzferrinhez, laktoferrinhez) kötötten, a baktériumok számára nem hozzáférhető állapotban található. Az *E. coli* bizonyos törzsei éppen azért virulensek, mert **aerobaktint**, a vasat hatékonyan felhalmozni képes sziderofór anyagot termelnek.

Különösen fontos patogenitásfaktorok a baktériumtoxinok. Két fő csoportjuk van: az **exotoxinok**, amelyek oldható fehérjék, s a baktériumok kiválasztják őket,

valamint az **endotoxinok**, amelyek csak a baktériumsejt károsodásakor, lízise alkalmával szabadulnak ki, s valójában a Gram-negatív fajok külső lipopoliszacharid membránjának komponensei. Az exotoxinok további csoportokra oszthatók: a **neurotoxinok** az ingerület normális továbbítását zavarják meg, a **citotoxinok** enzimikus támadással pusztítják el a gazdasejtet, az **enterotoxinok** pedig rendellenesen stimulálják az emésztőrendszer sejtjeit.

A neurotoxinok leghírhedettebb képviselője a **tetanusz-toxin**, melyet az obligát anaerob *Clostridium tetani* választ ki. Ez az anyag egy polipeptid (molekulatömege 160 000), amit a véráram szállít a fertőzés helyéről az idegsejtekhez, ahol specifikusan megkötődik. E kötődés következtében a normális izomtónushoz szükséges gátló-neuronok működése zavart szenved, a mozgató neuronok ugyanakkor hiperaktívvá válnak, s mindez tartós izomösszehúzódásokat, tetanuszos görcsöket eredményez: a görcsök a teljes vázizomzatra kiterjedhetnek, s fulladást okozhatnak. A toxint kódoló gén nem kromoszómán, hanem plazmidon lokalizált. Más neurotoxint, **botulinum-toxint** termel a *Clostridium botulinum*; a toxin által okozott szindrómát botulizmusnak nevezik, ritkán találkozunk vele, de gyakorta végzetes a mérgezés. Csaknem mindig rosszul elkészített konzervek fogyasztása okozza a bajt; a baktérium olyan készítményekben tud elszaporodni, amelyek nem savanyúak, nem jut beléjük oxigén, és nem tartalmaznak nitritet. A szabad toxin a gyomorsavnak ellenáll, s a fehérjebontó tripszin nemhogy közömbösíti, de egyenesen aktiválja a molekulát. A tünetek között említhetjük a víziókat, a nyelési zavarokat és a rohamos gyengeséget. Újszülöttek körében is előfordul a botulizmus, ebben az esetben azonban nem a táplálékkal veszik fel a toxint, hanem maga a baktérium szaporodik el a normális flórával még nem kolonizált emésztőrendszerben. Hatásmechanizmusát tekintve a botulinum-toxin a mozgató neuronokhoz kötődik, és megakadályozza a neurotranszmitterek (mediátorok) kibocsátását.

A citotoxinok közül a *Corynebacterium diphtheriae* által termelt **diftéria-toxin** okozta a legtöbb tragédiát. Csak a virulens törzsek termelik a toxint; a tulajdonságot kódoló gén a kromoszómán lokalizált, de eredetét tekintve szerzett tulajdonság, ami egy temperált bakteriofágból, a β -fágból épült be. Két, szinergisztikus kölcsönhatásban működő komponensből áll a diftéria-toxin: a B-alegység egy fehérje-dimer (molekulatömege: 41 000), ami a citoplazma-membrán felszínén levő receptorhelyekhez való kötődésért felelős, majd ez a kötődés teszi lehetővé a valódi toxin, az A-alegység (mt: 21 000) sejtbe való transzportját; az A-komponens a sejtben a polipeptidláncok hosszirányú épülését inaktíválja, ezzel végsősoron a fehérjeszintézist állítja le. Citotoxinoknak számítanak a tüszős mandulagyulladás és a skarlátot okozó *Streptococcus pyogenes* által termelt **sztreptolizinek**, amelyek a fagociták lizoszóma-membránját károsítják, ennek következtében, mint palackba zárt szellemek, kiszabadulnak az önveszélyes hidrolitikus enzimek, és elpusztítják a celluláris védekezőrendszer e fontos képviselőit.

Földünk egyes vidékein máig rettegett betegség a kolera, melynek sokszor végzetes tüneteit a *Vibrio cholerae* által termelt **kolera-toxin** okozza. Fertőzési forrásként mindig fekáliás szennyeződések szolgálnak, s néhány napos lappangás után súlyos hasmenés (diaré), hasi fájdalmak formájában tör ki a betegség. A diaré olyan intenzív lehet, hogy a szervezet vízvesztése elérheti a napi 15 litert, ami rövidesen kiszáradáshoz vezet. A toxin öt molekula B-alegységből (mt: 11 000) és egy molekula A-alegységből (mt: 29 000) áll; ennél az anyagnál is a B-komponens felel a toxin megkötődéséért, ami lehetővé teszi az A-alegység egyik komponensének (pontosabban az enzim hasítással leválasztott A1 fragmentnek) a vastagbél hámsejtjeibe való bejutását. Az ilyen sejtekben erősen megnő a ciklikus AMP (cAMP) szintje, ez stimulálja a sejteket, amelyek hatalmas mennyiségben pumpálnak elektrolitokat és vizet a bélbe.

Hasonló enterotoxinokat más bélbaktériumok is termelnek, kevésbé veszélyeseket, de olyanokat, amelyekkel nálunk is számolni kell. Az *Escherichia coli* több törzse is termel ún. hőlabilis (LT) és hőstabil (ST) toxint; az LT szerkezetét és hatását tekintve is hasonlít a kolera-toxinhoz, szerencsére kevésbé súlyos tüneteket okoz, az ST viszont sokkal kisebb fehérje (törzstől függően 1 000 és 6 000 dalton között mozog molekulatömege), s teljesen más szerkezetű. Ezek is a vastagbél hámsejtjeinek elektrolit-kibocsátását fokozva okoznak diarét, csak az ST nem a cAMP, hanem a cGMP (ciklikus guanozin monofoszfát) koncentrációjának növelésével éri el ezt a hatást. Az LT és az ST szintézisét kódoló gének plazmidon lokalizáltak. Említést érdemel még a **shiga-toxin**, melyet a *Shigella dysenteriae* termel; ez a toxin el is pusztítja a vastagbél hámsejtjeit a nagy riboszóma-alegység károsításán, végsősoron a fehérjeszintézis leállításán keresztül. A tünet gyakran véres diaré, amit azért érdemes megemlíteni, mert az *E. coli*-nak is vannak olyan törzsei, amelyek ilyen betegséget okoznak. A shiga-toxint kódoló gén kromoszómán lokalizált, a hasonló tüneteket okozó *E. coli* törzsekben levő toxint kódoló gén azonban bizonyos temperált fágokban fordul elő, s ezek viszik be a coliba. Az *E. coli* hallatlan változékonyságát demonstrálják a baktérium azon törzsei, amelyek nemcsak megtapadnak, de be is hatolnak az epitélium-sejtekbe; a behatolásra való képességért plazmidon lokalizált gén felel. Ha ilyen törzsek fertőznek, akkor lázas diaré lép fel, mert a védekező gazdasejt sok baktériumot elpusztít, azokból endotoxin szabadul fel, ami szétterjed a szövetekben.

Különleges virulencia-faktort jelent a gazdaszervezet védekezőrendszerének legyőzésére vagy kijátszására való képesség. Ennek egyik esetét, a *S. pyogenes* fagocitózis ellen ható sztreptolizinjét fentebb már láthattuk. Más kórokozók, így a *Streptococcus pneumoniae* bizonyos törzsei a fagocitáknak ellenálló tokot szintetizálnak, ismét mások, például a *Neisseria gonorrhoeae* specifikus fehérjéket építenek be sejtfalukba, ami megvédi őket a bekebelezéstől. Vannak olyan kórokozók,

amelyeket könnyen fagocitálnak az erre specializálódott sejtek, és mégsem pusztulnak el, sőt szaporodnak a fagocitákban, s gyakran felélik azokat. Erre képesek például a *Mycobacterium tuberculosis*, a *M. leprae*, a *Brucella abortus*, a *Salmonella typhi*, a *Yersinia pestis* és a *Listeria monocytogenes* virulens törzsei.

Antigén-variabilitás és antigén-mimikri segítségével is el lehet kerülni a gazdaszervezet ellentámadását. Különösen okos kórokozók szinte periodikusan módosítják felületi antigénjeik szerkezetét, s ezzel jelentős előnyre tesznek szert, hiszen a gazdaszervezet mindaddig védtelen marad, amíg immunrendszere nem kezdi el az új, megfelelő antitestek szintézisét. Más kórokozók a gazdaszervezetet szintetizálnak, amelyek antigénsajátságai alapján hasonlítanak a gazdaszervezet makromolekuláihoz. Az *E. coli* bizonyos, különösen agresszív törzsei (ezeket K5 típusnak nevezik) például tokanyagukat olyan poliszacharidokból építik fel, mely poliszacharidok részegységei a tüdőben, májban, artériák falában rendszeresen előforduló heparinnal azonos szerkezetűek. Saját makromolekulák ellen pedig nem termel antitestet a gazdaszervezet immunrendszere, így az „álcázott” baktérium elkerüli a felszámolására rendelt immunreakciót.

8.2.2. Növénykórokozó baktériumok

A legtöbb baktérium aktiv mozgással képes felkeresni gazdanövényét, a mozgékony-ságot ezért virulenciafaktornak tekintjük. Kísérletes bizonyítékok is vannak erre. Az *Erwinia amylovora* virulens törzsei gyorsabban fejlesztenek flagellumot (s többet is), mint az avirulens törzsek, ezért az előbbieket hamarabb reagálnak, sebesebben mozognak. A *Pseudomonas phaseolicola* mozgékony izolátumai lényegesen több léziót okoztak a babon, mint a mozgásuktól megfosztott változatok. Önmagában azonban nem elég a mozgékony-ság, mivel ennek élénksége környezeti viszonyoktól is függ; tudjuk például, hogy 30 °C hőmérséklet fölött általában lelassulnak a fitopatogén baktériumok. Eddigi ismereteink szerint a gazdanövény irányába történő mozgást kémiai ingerek váltják ki, tehát **kemotaxis** érvényesül, de soha nem egyetlen molekula az, ami vonzó hatással van, hanem különböző, a harmatban és a guttációs cseppekben felhalmozódó, könnyen felvehető tápanyagok (egyszerű szénhidrátok, aminosavak) megfelelő arányban való jelenléte az attraktáns. E tápanyagarányok nagyon jelentős mértékben különbözhetnek fajtól, fajtától, életkortól, évszaktól, sőt napszaktól függően is.

Még fajlagosabb felismerést tesznek lehetővé azok a **receptorok**, amelyek a növények felszínén, olykor sebzett szövetek sejtjein találhatóak. Ezek a receptorok többnyire **lektinek**, olyan glikoproteinek, amelyek az antigénekhez hasonló fajlagos kapcsolódási helyeket kínálnak. Ilyen helyeket a kórokozók felismernek, a nem-kórokozók viszont közömbösek irántuk.

Megkülönböztetett szerepe van a virulenciában a baktériumok sejtfalának. A növényi receptorhelyekhez ugyanis a baktériumok **lipopoliszacharidjai** kapcsolódnak, ezeknek kellően változatos a struktúrájuk ahhoz, hogy antigén-antitestszerű(!) kötődésben részt vegyenek. Sőt, a függelékek is szerepet játszhatnak a felismerésben: vannak olyan kórokozók, amelyek **mikrofibrillaikkal** tapadnak a receptorokhoz.

Fontos virulenciafaktorok az **extracelluláris poliszacharidok (EPS)**, amelyek valójában a glikokalix alkotói. Számos híradás szól arról, hogy az EPS-üktől megfosztott baktériumok elveszítették virulenciájukat, s vannak olyan közlések is, amelyek EPS-t bontó növényi enzimekről szólnak; az ilyen enzimeket termelő fajták nem fertőzhetőek. Nemcsak fizikai védelmet jelent az EPS, de egyenesen közömbösítheti is a gazdanövény védekezőrendszerének bizonyos elemeit. Az *Erwinia amylovora* EPS-e például inaktíválja azt a kisméretű fehérjét, ami az almatermés magvaiban halmozódik fel, és normális körülmények között képes a specifikus EPS-t nem termelő baktériumokat agglutinálni, s ezzel fertőzésüket meggátolni. Azzal is súlyos károkat okoz az EPS, hogy nagymennyiségű vizet képes a környezetből felvenni, s ha EPS-t szintetizáló baktériumok telepedtek meg a sejt közötti járatokban, e járatok vízzel telítődnek (zsírfojtosság tünetek alakulnak ki), lédús környezet jön létre, ami kedvez a baktériumok további szaporodásának. Említést érdemel még egy fontos funkciója az EPS-nek, az, hogy képes megakadályozni a baktérium és a gazdasejt közötti közvetlen kontaktust; ha ez az érintkezés nem jön létre, nem történik meg a növény részéről a felismerés, s nem indukálódik a védekezési reakció.

Főként a lágyrothadást okozó baktériumokra, például az *Erwinia carotovora* jellemző nehézfegyverek a **pektinbontó enzimek** (pektin-liáz, poligalakturonáz, pektinmetilészteráz), amelyek a sejtek összekötő anyagául szolgáló pektint hidrolizálják.

Egészen különleges az a fegyver, amivel a növényi tumorokat okozó *Agrobacterium tumefaciens* képes beavatkozni gazdaszervezetének anyagcseréjébe. Ez a kórokozó plazmidokat hordoz, melyeket bejuttat a fogékony növény sejtjeibe, s a plazmidból fontos szakaszok integrálódnak a gazda kromoszómájába. Még hozzá meglehetősen stabilan, van olyan kísérlet, amelyben 25 éven át fenn tudták tartani a tumoros szövettényészetet. Az integrálódott plazmid-DNS-sel egyrészt olyan gének kerülnek a növénybe, amelyek növekedési hormonokat (indolecetsavat, *transz-zeatint*) kódolnak, s ezzel készítetik burjánzásra a fertőzött sejteket. Más gének pedig különleges aminosav-módosulatok létrejöttéhez szükséges enzimek kódját tartalmazzák. Ezek a különleges aminosavak az **opinok** (agropin, hisztopin, nopalín, oktopin), amelyek közül többnek is ismerjük a bioszintézis-útját, és a folyamatban részt vevő enzimet is azonosították. Az oktopin-szintetáz enzim katalizálja a piruvát és az arginin kondenzálódását, minek következtében **oktopin** keletkezik, a lizopin-dehidrogenáz segíti a piruvát és a lizin **lizopin**ná alakulását, a nopalín-szintáz pedig a **nopalín** szintéziséért felel; az aldohexóz és a glutaminsav

élő epidermisz szöveteken (hajon, körmön) megtelepedett gombák – főként *Microsporium*- és *Epidermophyton*-fajok – okoznak. Bármely éghajlaton nagyon gyakran találkozunk velük, és kiterjedt fertőzéssé fejlődhetnek, ha elhanyagoljuk őket. Nem képesek viszont invázióra a felületi mikózist kiváltó gombák (például *Trichosporon*-fajok), amelyek főként trópusi körülmények között és az agyonkozmetikázott bőrön telepsznek meg.

Igen sok kellemetlenséget okozhatnak az **opportunistikus mikózist** okozó gombák, közülük a *Candida albicans* élesztőgomba a legismertebb, amely helyi fertőzéseket vált ki a test legkülönbözőbb nyálkahártyáin: a szájpenész és a vulvovaginális mikózisok kitüntetett szereplője. Legyengült, immunhiányos szervezetre, a HIV-fertőzés vagy a tüdőrák utolsó szakaszaiban, végzetes lehet a *Candida*-infekció.

Közvetett humánegészségügyi hatásai is lehetnek a mikroszkopikus gombák által termelt óriási spóratömegnek. Főként a penészgombák spóráinak belélegzése okoz súlyos **allergiás** rohamokat az arra érzékeny egyedeken. Csaknem 600 gombafajról bizonyították az allergén hatást, s ez nyilván messze nem a teljes szám. Mint említettük, nagyon lényeges az egyedi érzékenység, de az is fontos, milyen gyakorisággal kerül kapcsolatba egy-egy ember mikrogombák spóratömegével. Allergiás szempontból teljesen normális egyedek is érzékennyé válhatnak a tartós és erős kitettség következtében: azaz, szinte foglalkozási ártalomnak tekinthető a gombaspórákra való allergiás reagálás. A **farmer's lung** („farmertüdő”) betegség akár végzetes is lehet; azok a mezőgazdasági munkások szenvednek tőle, akik sokat dolgoznak penészes szénaféleségekkel, romlott anyagok komposztálásával. Hasonló ártalmak érhetik a kender- és egyéb rostnövények feldolgozásával foglalkozó munkásokat, a pozdorjaüzemek dolgozóit. Kémiailag kevésbé tisztázott, milyen komponensek váltják ki az allergiás tüneteket, de valószínűleg egy-egy gombacsoportra jellemző specifikus makromolekulák (poliszacharidok, lipidek, fehérjék komplexei), esetleg a haptén-jellegű anyagoknak is lehet szerepük.

Ugyancsak veszélyes, közvetett károkozók a mikotoxinok, amelyek penészgombák másodlagos anyagcseretermékei, és az ilyen gombák által károsított takarmányokban és élelmiszerekben halmozódnak fel. Hatásuk alattomos, általában nem okoznak azonnali tüneteket, jelenlétük érzékszervi úton nem észlelhető, ezért a fogyasztó (vagy az állat) nem utasítja vissza a toxinszennyezett táplálékot. (Ritka kivétel a dezoxinivalenol, ez a *Fusarium*-fajok által termelt trichotecén-származék, amelynek hánytató hatása van.) Komoly népegészségügyi veszélyt jelent az, hogy egyes mikotoxinok az állati termékekben is felhalmozódnak, s így közvetetten is mérgeződik az emberi szervezet – megint csak alattomosan, lassú adagokban, fokozatosan akkumulálódva.

Hatásukat, kémiai szerkezetüket, eredetüket tekintve nagyon vegyes társaság a mikotoxinoké, az egyes azonosított, jellemzett komponensek száma több ezerre tehető. Nem fogjuk ezeknek még töredékét sem elősorolni, a főbb csoportokat azon-

ban megemlítjük, szólunk azokról a gombákról, amelyek termelik őket, s magáról a toxikus hatásról is adunk némi információt.

Az **aflatoxinok** szubsztituált kumarinszármazékok, termelői az *Aspergillus flavus* és az *A. parasiticus*. Különböző alcsoportjaik vannak, ezeket B, G és M betűvel jelölik. Súlyos májkárosodást és tumorokat okoznak emberen-állaton, de szervezetére a mi éghajlatunkon nem termelődnek, bár az említett gombafajok nálunk is fellelhetők. Elsősorban trópusi országokból származó takarmányokban és élelmiszerekben számíthatunk előfordulásukra.

Kémiai szerkezetük alapján az aflatoxinokkal mutatnak rokonságot a **szterigmatocisztinek**, melyek szubsztituált xanton-vegyületek, az aflatoxin bioszintézis köztestermékei, és szintén *Aspergillus*-fajok (*A. versicolor*, *A. nidulans*, *A. amstelodami*, *A. flavus*, *A. parasiticus*) termelik őket. Májkárosodást okoznak, rákkeltő hatásúak, de legveszélyesebb képviselőjük, a szterigmatocisztin „csak” tizedannyira mérgező, mint a legagresszívebb aflatoxin, a B1.

Még mindig az *Aspergillus*soknál tartunk, amikor megemlítjük az **ochratoxinok**at, amelyeket az *A. ochraceus* csoport tagjai és a *Penicillium verrucosum* termel. Vesekárosodást okoznak ezek az anyagok, amelyek kémiailag dihidrokumarinhoz kapcsolódó β -fenilalanin vegyületek. Prokariótákra is erősen toxikusak.

Szintén a vesét károsítja a **citritin**, mely az ochratoxinnal együtt jelenik meg a *P. verrucosum* és néhány más *Penicillium*-faj tenyésztésűrlétében. *Penicillium*- és *Aspergillus*-fajok termelik a **patulint** és a **citreoiviridint**, mindkettő fertőzött rizszemekben halmozódik fel, az előbbi vérzékenységet okoz, az utóbbi pedig neurotoxikus tüneteket.

Hazánkban igen gyakori toxin a **zearalenon**, amelyet gabonaféléken élő *Fusarium*ok termelnek, kémiai szerkezetük szerint rezorcilsav-laktonok, biológiai hatásuk szerint ösztrogének, nemi hormonként hatnak, és álvirzási tüneteket váltanak ki. A *Fusarium*-toxinok másik, még veszélyesebb csoportját az **epoxitrichotecének** alkotják; közülük igen gyakori a már említett dezoxinivalenol, ritkább, de igen veszélyes a T-2 toxin, amely halálos kimenetelű nekrozisokat okoz az emésztőrendszerben.

Állategészségügyi szempontból lényegesek a **sztachybotris toxinok**, makrociklikus trichotecének, melyek fő termelője a *Stachybotris atra*. Végezetül említjük az *Alternaria*-fajok által termelt **alternariatoxinok**at, amelyek főként zöldség- és gyümölcsfélékben halmozódhatnak fel, keringési zavarokat okoznak és kolinészteráz-bénítók.

A mikotoxinok hatása ellen legjobban a megelőzéssel lehet védekezni, hiszen a szennyezett terményt vagy élelmiszert már nem lehet gazdaságosan toxinmentesíteni, és a hőkezelés (főzés) sem segít. A szennyezett takarmányokat leginkább úgy tudják hasznosítani, hogy kevésbé érzékeny állatokkal (pl. baromfival) etetik fel, de vannak kísérletek a mikrobiológiai úton történő lebontásukra is. A megelőzés alap-

ja a pontos diagnózis, idejében ki kell mutatni a toxinok és a gombák jelenlétét, az előbbieket mennyiségi meghatározása, felhalmozódásuk ütemének becslése is fontos. Kiváló, de drága analitikai módszerek állnak rendelkezésünkre: a gázkromatográfia, a folyadékromatográfia vagy a szerológiai detektálás. A toxinok felhalmozódása már a szabadföldön is megindul, de különösen raktározáskor gyorsul fel ez a folyamat, mégpedig akkor, ha túl nagy a termés nedvességtartalma és rosszak a tárolási körülmények.

8.3.2. Növénykórokozó gombák

E téren fordított a helyzet, nem 300, de becsülni is alig tudjuk hány ezer, különféle növényi betegségeket okozni képes gombafaj van.

A növények és a növénykórokozó gombák között kialakuló kapcsolat első lépése az egymásra találás, mely folyamatban a helyhez kötött növények szerepe teljesen passzív, de a gombákra sem jellemző a különös aktivitás; többnyire szél, víz, rovarok vagy egyéb vektorok szállítják őket. Ismeretesek azonban olyan csoportok (*Plasmodiophoromyces*, *Oomyces*, *Chytridiomyces*), amelyek képviselői fel tudják keresni a célszervezetet úszó mozgásra, gazdaspecifikus kemotaxisra képes zoospóráik révén. Miután a két partner között létrejött a fizikai érintkezés, a sérülékeny gombaspóráknak mindent el kell követniük, hogy mielőbb bejussanak a szövetekbe. Erre csak bizonyos kórokozókban fejlődött ki aktív mechanizmus, amelyekben nem, azok – például a seb- és gyöngültségi patogének – csak szaporaságukban és a környezeti károsodással szembeni viszonylagos ellenállóságukban bízhatnak. Vannak aztán úgynevezett közvetlen módon behatoló fajok, többnyire a nekrotrofok köréből, amelyek nem-differenciálódott csíratömlővel és extracelluláris hidrolitikus enzimjeik segítségével törnek át a kutikulát. A biotrófok többségében azonban speciális fertőző képletek – **appressórium** és **behatoló nyúlvány** (penetration peg) – alakultak ki a törzsfejlődés során.

E képletek megismerésére a rizst fertőző *Magnaporthe grisea* (anamorf: *Pyricularia oryzae*) végeztek beható vizsgálatokat. Amikor a kórokozó konídiumai szilárd felületre kerülnek, a páradús mikrokörnyezetből vizet vesznek fel, és nyálkás anyagot bocsátanak ki. A nyálkával rögzített konídium csírázásnak indul, a kitüremkedő csíratömlő appressóriumkezdeménnyé alakul, e kezdeményben mitotikus osztódás megy végbe, az egyik utódsejtmag a konídiumban marad, a másik az appressóriumba kerül. Az appressórium – egyre jobban szétterjedve – rátapad a célfelületre, fala elvékonyodik, előbújik a behatoló nyúlvány, a kórokozó tényleges fertőző eszköze. Jelentős mennyiségű **melanin** halmozódik fel az appressórium belső falán, ami egyfelől fizikai védelmet biztosít a behatoló nyúlványnak, másfelől részt vesz a nyúlvány behatolásához szükséges erős ozmotikus nyomás kialakí-

tásában. Az *M. grisea* ugyanis pusztán mechanikai erejére hagyatkozik a behatolás-kor, a más gazda-patogén kapcsolatokban oly jelentős sejtfalbontó enzimek szerepét ebben a fajban nem sikerült igazolni.

Példaként hozott kórokozónk egyébként a behatolás tárgyául kapott felület topográfiai sajátosságaival sem törődik különösebben. Sima műanyaglapon épp úgy csírázásnak indul mint levélen, s bár e rászédhetőségével nincs egyedül a gombák világában, ismerünk sokkal óvatosabb fajokat is. Különböző rozsdagombák például kizárólag a nekik tetsző, kellően rücskös felületen hajlandóak csírázni, egyik képviselőjük, az *Uromyces appendiculatus* pedig csak akkor fejleszt appressóriumot, ha csíratömlője növényi légzőnyílást vagy annak morfológiai utáztatát észleli.

Nemcsak topográfiai ingerek készíthetik behatolásra a kórokozókat, hanem kémiaiak is. Egyes gombafajok igen bölcsen elfogadják a növényi kutikulából származó komponenseket, így poláros csoportokat hordozó viaszésztereket, aldehideket, alkoholokat. Olykor csak egészen fajlagos ingerekre reagálnak. A *Colletotrichum gloeosporioides* avokádóra patogén formájának csírázó konídiumait az avokádókörte viaszbevonata appressóriumképzésre serkenti, más növények viaszbevonata azonban nem. Kiderült, hogy a stimulust a **viasz zsíralkohol-komponensei** váltják ki, méghozzá az igen hosszú szénláncúak (> C₂₄), azok, amelyek az avokádó gyümölcsét borító viaszban meghatározott részarányt képviselnek.

A növény felszínén megtapadt spórák nyálkás burkában poliszacharidok által indukálható extracelluláris **sejtfalbontó enzimek** vannak, pektinázok, cellulázok és kutinázok. Különösen az utóbbiakkal foglalkoztak sokat: vannak, akik a kórokozók legfőbb fegyverének tartják a kutinázokat, mások viszont cáfolják a nekik tulajdonított döntő szerepet. Akik a **kutinázok** mellett állnak, azok szívesen emlegetik az olyan kísérleteket, amelyekben kutinázhiányos mutánsokhoz, vagy csak sebzésen keresztül támadó (valójában nem-patogén) gombákhoz tisztított kutináz enzimet adtak, és ezzel a beavatkozással sikerült fertőzést kieroszakolni. A kutináz egyébként kutin monomerek indukálják, s az indukció gyorsabb az agresszív törzsekben mint a szelídekben. Hasonlít a kutinázgén szabályozása a szteroid-gének regulációjához. Akik nem hisznek a kutinázokban, azok géndiszruptív kísérletekre hivatkoznak: ha transzpozon mutagenézissel állítottak elő kutinázhiányos mutánsokat (ennek – mint tudjuk – az a lényege, hogy nagyon pontosan célzott, nem történik semmi zavaró, járulékos mutáció), akkor – bizonyos kórokozók esetében – a mutánsok nem váltak avirulensekké. Mint sok más helyzetben, itt is valahol közepén lehet az igazság: jó ha van kutinázaktivitás, növelheti az agresszivitást, javíthatja a kórokozó esélyeit, de nem abszolút fegyver, ha hiányzik, más patogenitásfaktorok segítik a kórokozót. Ezt az arany-középut elméletet támogatja az az elegáns kísérlet, amelyben a borsóra nem-patogén *Cochliobolus heterostrophus* transzformálták a borsópatógén *Fusarium solani* kutinázgénjével, s az előbbi ettől nem vált képes-

sé a borsó megbetegítésére; ha azonban egy másik gént is beültettek a *C. heterostrophus*-ba (mely egyébként a kukorica kórokozója, tehát valami affinitása van a növényekhez), s ez a gén a borsó gombagátló fitoalexinjének (1. később) lebontására tette képessé a *Cochliobolust*, akkor a két új tulajdonság (kutinbontás + fitoalexin-közömbösítés) birtokában már a borsón is legénykedni tudott ez a gomba. (Ha nem növénypatogén gombát – pl. *Aspergillust* – transzformáltak a két génnel, attól az nem vált Júda Oroszlánjává, hanem megmaradt békés szaprofitonnak.)

Nemcsak kutináz-indukcióról jelennek meg híradások, egyéb litikus enzimeket (pektinázokat, cellulázokat, nukleázokat) is sikerült növényi komponensekkel indukálni, cDNS klónokat is készítettek, sőt történtek óvatos utalások arra nézve, miszerint ezek az enzimek is szerepet játszhatnak a virulenciában. E fejtegetéseket azonban nem érdemes komolyan venni, hiszen az indukció táptalajon vagy legyűrt, kolonizált szövetekben is végbemegy, szaprofiton gombákban is megfigyelhető, s nem szolgál egyebet, mint tápanyagfelvételt és tápanyaghasznosítást.

Azzal azonban, hogy a kórokozó bekerült a növényi szövetekbe, még távolról sem dőlt el a két élőlény közötti küzdelem, sőt a behatolás után indulnak meg azok a biokémiai, élettani folyamatok, amelyek döntő szerepet játszanak a gazda–patogén kapcsolatok milyenségének alakulásában. Amíg a gomba át nem törte a növényi kültakarót, addig nem beszélhetünk a két partner kommunikációjáról. Az üzenetek egyoldalúak voltak: csak a gomba észlelt csábító felületeket, és csak ő fogadott olyan jeleket, amelyek enzimek szintézisét indukálták benne. Azok a mesterkedések azonban, amelyekkel a gomba a behatolást végezte, nem maradnak észrevétlenül, részben gomba-, részben gazdaeredetű elicitorok figyelmeztetik a növényt az indukálható védelmi rendszer beindítására. Az elicitorok többsége – kitin-oligomerek, glukánszármazékok, pektin és cellulóz bomlástermékek – nem fajlagos anyag. Ezek csak mérsékelttel érélyes választ váltanak ki, s csak a faj szintjén döntenek el a kompatibilitás – inkompatibilitás kérdéséről.

Különös, specifikus elicitorok kezdeményezik az ún. **gén–génnel szemben elv** alapján működő kapcsolatra jellemző védekezési reakciót. Genetikai és élettani szempontból az a legizgalmasabb kölcsönhatás, amely növényfajták (vonalak) és kórokozó rasszok (patotípusok) között alakul ki. Ebben az esetben egyetlen növényi rezisztenciagénnel szemben a kórokozó egyetlen avirulenciagénje áll; a szóban forgó rezisztenciagént hordozó növényvonal semmi fenotípusosan észlelhető tulajdonság tekintetében nem különbözik a másik vonaltól, amely viszont híján van ennek a rezisztenciagénnel (emiat fogékony az adott kórokozóra), továbbá az avirulenciagént hordozó, illetve ezt a gént nem tartalmazó két mikroorganizmus törzs is teljesen egyforma (csupán az egyik nem képes a megbetegíteni az adott növényt, a másik viszont képes). Tehát közel-izogén vonalak állnak a gazdanövény oldalon, és csaknem izogének a kórokozó oldalon is, s mégis: az egyik esetben létrejön a fer-

tőzés, kialakul a betegség, a másik esetben pedig felismeri a növény a támadót, és mozgósítja ellene védelmi rendszerét. Ez a finom különbségtétel csak nagyon fajlagos elicitorok észlelése révén valósulhat meg. Paradicsom–*Cladosporium fulvum* rendszerben mutattak ki először olyan kis molekulatömegű ciszteingazdag fehérjéket, amelyek hidrofóbinok melléktermékeként jelentek meg a gomba extracelluláris terében, és elicitorként HR-t indukáltak az ellenálló gazdanövényben. (A hidrofóbinok alapvető szerepet visznek a gombák életében, biztosítják a száraz konídiumfelszint, és részt vesznek az appresszórium-képződésben; az már külön „balszerencsésük” a kórokozónak, hogy hidrofóbinjaikat felismerheti a növény.) A kis ciszteingazdag elicitorok viszont rendkívül plasztikusak: a *C. fulvum* rasszaiban egyetlen pontmutáció révén olyan változataik jelentek meg, amelyeket az eredetileg ellenálló gazdanövény már nem ismert fel, nem reagált rájuk, emiat megfertőződött. Amikor beható elemzésnek vetették alá az ilyen elicitorokat kódoló géneket, azt találták, hogy az **elicitor-módosulást** eredményező mutáció mindig valamelyik cisztein kodont (TGT) érintette, s a változás mindig TGT-ről TAT-re történt, vagyis egy cisztein tirozinra cserélődött, és ez a csere jelentős módosulást okozott a fehérje (az elicitor) harmadlagos szerkezetében.

Nagy hatású virulenciafegyver tehát az elicitor-módosítás, egy grundcsel egyszerűségéhez és eredményességéhez hasonlítható, de nem sikerül mindig, s nem jellemző minden gazda–patogén kapcsolatra. Bizonyos gombák ehelyett **szuppresszorokat** választanak ki, olyan anyagokat, amelyek gátolni képesek a növényi védekezési reakciót. A *Mycosphaerella pinodes* például egy 5 kDa nagyságú glikopeptidje segítségével órákkal képes késleltetni a fitoalexin-szintézisben kulcsszerepet játszó enzimek termelődését; ezalatt pedig jelentősen megerősödnek a szövetekbe behatoló hausztóriumok, amelyekre már kevésbé hatnak a fitoalexinek.

Komoly fegyvereknek számítanak a gombák toxinjai, méghozzá a **fitotoxinok**, amelyek a növényeket károsítják (s nem a korábban említett mikotoxinok, amelyek a növényt vagy növényi terméket fogyasztó emberre-állatra jelentenek veszélyt).

Különösen érdekesek az ún. **gazdaspecifikus toxinok**, amelyek szelektíven hatnak: csak azokon a növényi genotípusokon okoznak kárt, amelyek fogékonyak a toxint szintetizáló kórokozóra. A tizegynehány ismert gazdaspecifikus toxin mind egyike kis molekulatömegű szekunder metabolit; kémiailag peptidek, terpenoidok, oligoszacharidok vagy poliketidek lehetnek. Nagyon fontos sajátossága a gazdaspecifikus toxinoknak az is, hogy az a gombatorzs, amelyik ilyen anyagot termel, virulens ahhoz a törzshöz képest, amely egyébként minden tulajdonságát tekintve identikus vele, csupán a toxint nem szintetizálja.

A gazdaspecifikus toxinok hatásmódjának tanulmányozása terén a zabot fertőző *Cochliobolus victoriae* által termelt **viktorin** megismerésében jutottak a legmesszebbre. A kórokozó (s egyben a viktorin) iránti fogékonyságot egyetlen, *Vb*-nek

nevezett domináns allél határozza meg. Ez a *Vb* olyan, a sejtmembránon lévő fehérjetermészetű receptort kódol, amely specifikusan megkötí a toxint, s így lehetővé teszi hatásának kifejtését; a receptor hiánya rezisztenciát eredményez, hiszen ilyenkor nincs anyag, amelyik megkösse a toxint.

Jelentős molekuláris biológiai ismeretanyag gyűlt össze a *Cochliobolus carbonum* gazdaspecifikus HC-toxinjára vonatkozóan. Ez a toxin, melyet a gomba 1-es rassza termel, egy kis molekulatömegű tetrapeptid, és szelektíven fokozza a plazmamembrán áteresztőképességét azokban a kukorica genotípusokban, amelyekben nem működik a *Hm* rezisztenciagén. Bioszintézise az egyéb kicsiny mikrobiális peptidkéhez hasonló módon történik (riboszómák közreműködése nélkül), mely folyamatokról tudjuk, hogy azokban egy-egy sokfunkciójú óriásenzim katalizál több egymásra épülő lépést. Sikerült tisztítani a „HC-toxin-szintetáz” enzimet (ami valószínűleg két, összehangoltan működő epimeráz enzim), s azonosították azt a gént (*Tox2*), amely ezek szintézisét kódolja. A *Tox2* az egész élővilág eddig ismert legnagyobb génje, mintegy 56 kb nagyságú, s valószínűleg horizontális géntranszfer révén került a virulens rasszba. Azok a kukoricafajták, amelyek rezisztensek a *C. carbonum* 1-es rasszával szemben enzimatis úton bontják a HC-toxint; a bontást végző enzimet HC-reduktáznak nevezik. Ez a HC-reduktáz nemcsak a kukoricában van jelen, hanem a pázsitfűfélék egyéb fajaiban is, s mert az enzim semmi létfontosságú folyamatot nem katalizál, csak a ciklikus tetrapeptidok közömbösítésére szolgál, vannak, akik úgy vélik: az ilyen toxinok – a védekezőrendszer kiépítésének kényszerítésével – fontos szerepet játszottak a *Poaceae*-család evolúciójában.

A nem gazdaspecifikus toxinokat virulens és avirulens gombatorzsek egyaránt termelik, s ezek az anyagok általános fitotoxikus hatásúak. Közülük is említsünk meg néhányat. Hervadást okozó *Fusarium*-fajok termelik a **fuzarinsavat**, amely kelátképzéssel köti meg a vasat, s így teszi lehetetlenné a citokrómok működését; növényi sejteken végzett mesterséges kezelés hatására a sejtmembrán permeabilitása is fokozódik, erősödik az ionkiáramlás, a sejt ozmotikus sérülékenysége fokozódik. Széles körben ismert anyag a **tentoxin**, az *Alternaria alternata* (*tenuis*) tenyésztésűrlétéből kinyerhető ciklikus pentapeptid, mely gátolja a szintestek membránfelépülését, ami végső soron a klorofillszintézis lassulásához, a fotoszintetikus aktivitás gyengüléséhez vezet.

Különleges képesség fejlődött ki az indukált védekezés letörésére néhány fitopatogén gombában: a **fitoalexin-bontás**. A fitoalexinek olyan másodlagos anyagcseretermékek, amelyeket hiperszenzitivén reagáló növények választanak ki, s amelyek gombaellenes hatásuk révén képesek szekunder fertőzést vagy gyors kolonizációt meggátolni. Többségük izoflavonoid vagy szeszkviterpén jellegű anyag. A *Nectria haematococca* (*Fusarium solani*) gomba legtöbb törzse jámbor szaprofiton, de vannak különféle növényeket megtámadni képes változatai is. A borsót fertőző

változatok abban különböznek a többitől, hogy képesek demetilezéssel hatástalanítani a gazdanövény által termelt izoflavonoid fitoalexint, a **pizatin**t. Ezt a bontást a citokróm P-450 mono-oxigenázok családjába tartozó pizatin-demetiláz katalizálja. Amikor sikerült klónozni az első pizatin-demetiláz gént (*pda*), s ezzel transzformációs kísérleteket kezdtek, roppant érdekes eredményekre jutottak. Ha átvitték a gént a kukoricapatogén *Cochliobolus heterostrophus* gombába – amely azért képes volt addig is növényi szövetekbe behatolni, ott táplálékforráshoz jutni, védekezési reakciót úgy-ahogy tolerálni, de borsón még véletlenül sem fordult elő – akkor ezen új tulajdonság birtokában, melyre egyetlen idegen gén befogadásával tett szert, hajlandó volt a korábban gazdájának nem számító borsót is fertőzni. Ha viszont az abszolút szaprofiton *Aspergillus nidulans*t transzformálták a *pda*val, akkor hiába nyilvánult meg a gén, hiába mértek pizatin-demetiláz aktivitást a transzformánsokban, a borsót mégsem tudta megbetegíteni ez a növénykörtanban csak hírből ismert penészgomba.

PESTI MIKLÓS

9. ANTIMIKROBIÁLIS ANYAGOK



Antimikrobiális anyagoknak nevezzük mindazon természetes, félszintetikus vagy szintetikus vegyületeket, amelyek kis koncentrációban és általában szelektíven – a ségét. Az antibakteriális anyagok azon csoportját, amelyet mikroorganizmusok ter- vegyületeket **kemoterápiás** szereknek nevezzük. Szűkebb értelemben **növényvédő- szereknek** nevezzük mindazon vegyületeket, amelyek növénykórokozó mikroorga- nizmuskok ellen hatásosak. A félszintetikus antibiotikumok és a növényi eredetű antimikrobiális anyagok elterjedése miatt kívánatos egyszerűsítésként megkülönböz- tetni ezen anyagokat az alapján, hogy milyen kórokozócsoporttal szemben hatásosak. Ennek megfelelően beszélhetünk **antivirális** (virusellenes), **antibakteriális** (bakté- riumellenes) és **antifungális** (gombaellenes) vegyületekről. Az antimikrobiális anya- gok kutatásának végcélja olyan vegyületek felfedezése, amelyekkel szemben az adott fertőző mikroorganizmus alacsony koncentrációnál is érzékeny és nem, vagy csak kismértékben toxikusak az állati vagy növényi gazdaszervezetre, az adott anyag biotranszformációja *in vivo* nem következik be, vagy ha igen, akkor is az aktív for- mája kellő időtartamig fejt ki antimikrobiális hatását, amelyek eloszlása és koncent- rációja a gazdaszervezet szöveteiben olyan, hogy az adott patogén kórokozó pusztulását eredményezik.

9.1. Szaporodásgátlás típusai, hatásmód, hatásspektrum

Az antimikrobiális anyagok a kórokozó életfolyamatainak gátlásával eredményez- hetik a sejtek gyors pusztulását (**cidikus** hatás, pl. sztreptomycin), a szaporodás meg- szűnését (**statikus** hatás, pl. mikonazol), vagy a sejtek szétesését hipotóniás közegben (**litikus** hatás, pl. penicillin). Ismerünk olyan vegyületeket, amelyek alacsony koncent- rációban statikus, magasabb koncentrációban cidikus hatásúak (pl. amfotericin B, nitrofurantoin). A szaporodásgátlás típusát úgy határozhatjuk meg, hogy egy adott patogén kórokozó aktívan szaporodó tenyészetéhez megfelelő koncentrációban adjuk a vizsgált hatóanyagot és meghatározzuk a sejszámot, valamint az élő sejszámot az idő függvényében. Így megállapíthatjuk, hogy milyen módon hat ez a vegyület.

A gyógyszeres kezelés és a növényvédelmi eljárások folyamán gyakran alkal- mazott módszer az egy adott hatóanyaggal történő kezelés mellett (**monoterápia**) a **kombinált kezelés**, azaz egynél több, általában két antimikrobiális anyag adása. A kombinált kezeléssel növelhető a kezelés eredményessége, csökkenthető a keze- lés időtartama és a patogén populációból a rezisztens, a másodlagosan fertőző tör-

A fenti módszerek lehetővé teszik, hogy kiválasszuk a már engedélyezett gyógyszerek és növényvédőszeresek közül a kezeléshez leghatékonyabb antimikrobiális hatóanyagot. A terápiához, azaz a gyógykezeléshez meghatározandó az a szükséges, de még elégséges legalacsonyabb hatóanyag-mennyiség, dózis, amely eredményes kezeléshez vezet. Humán és állatgyógyászatban erre a mennyiségi viszonyra ad felvilágosítást a **kemoterápiás index**. Ezt úgy kapjuk meg, hogy a gazdaszervezet által károsodás nélkül elviselhető legmagasabb dózis (dózis tolerata maxima) értékét elosztjuk a gyógyulást eredményező legkisebb dózis (dózis curativa minima) értékével. Minél nagyobb ez a hányados, annál biztonságosabban alkalmazható az adott hatóanyag.

A **kezelési tervben** (a hatóanyag megválasztásával, az alkalmazás és adagolás módjával) figyelembe kell venni a gazdaszervezet korát, hatóanyag-érzékenységét, állati szervezeteknél a betegséget és belső szervek működését, valamint a hatóanyag **farmakológiai** tulajdonságait (felszívódási viszonyokat, szöveti diffúziót és eloszlást, valamint a hatóanyag átalakulását, lebomlását, illetve kiürülését).

9.3. Vírusellenes vegyületek

A vírusok a gazdaszervezet szintézis útjait használják fel szaporodásuk során, ezért a legtöbb antivirális vegyület, amely gátolja a vírusszaporodást szintén hatással van a sejt anyagcserefolyamataira. Ezért van az, hogy nagyon kevés, klinikumban is használható vírusellenes vegyületet ismerünk és ezeknek is szűk a vírusellenes spektruma. Laboratóriumi körülmények között az alábbi vírusellenes vegyületeket használjuk:

Támadáspont	Vegyület neve	Alkalmazása
Viriongátlás	Kethoxal	Influenzavírus
Dekapszidáció gátlása	Amantadin	Influenzavírus
	3-Metiloxazol	Rhinovírusok
Nukleinsav-replikáció gátlása	Benzimidazol	Poliovírus
	5-Jododeoxyuridin (IUDR)	Herpeszvírus
	Acyclovir	Herpeszvírus
	Azidothimidin	Retrovírus (HIV)
Érés folyamat gátlása	Isatin-tiosemicarbazon	Smallpox vírus

A fenti vírusellenes vegyületek közül gyógyászatban alkalmazzák az **5-jododeoxyuridint**, amely egy timidin-analóg és annak ellenére, hogy mind a vírus, mind is okozó *Herpes simplex* ellen. Az **amantadint** ajánlják megelőző kezelésként az influenza A vírus okozta járványok fellépése esetén. Az amantadin gátolja a vírus dekapzidálódását, hanem a vírus adszorpcióját is. Az **acyclovir** bizonyítottan az egyik leghatékonyabb herpeszellenes vegyület. Szelektív antivirális hatásának oka, hogy egy, a herpeszvírus által kódolt timidin kináz enzim katalizálja az acyclovir átalakulását in vivo foszforizált acylguanozin monofoszfáttá, amely tovább alakul a herpeszvírus DNS polimerázát gátló trifoszfáttá. Az **azidothimidin** egyike azon vegyületeknek, amely sikeresnek bizonyult az AIDS kezelésében. Aktív fortranszkriptázt és ezen keresztül az RNS-DNS-átírást.

A mezőgazdaságban jelentős a vírusok okozta kártétel, ugyanakkor nincs gazdaságosan használható vírusellenes szer. Ezért van nagy jelentősége a vírusok okozta kártételek csökkentésében a **megelőzésnek**. Ezt szolgálja a 1.) vetésgörög betartása, ismerte az egymást követő kultúrák vírusérzékenységét, 2.) ahol lehetséges, a csávázott (5% NaOH) vetőmag alkalmazása, 3.) hatóságilag ellenőrzött, vírusmentes szaporítóanyag (burgonya, szőlő, gyümölcsfák stb.) vetése, illetve telepítése, 4.) vírusrezisztens fajták és hibridek (étkezési paprika, paradicsom, uborka stb.) kiválasztása, 5.) betakarítás után a vírusfertőzött növényi anyag megsemmisítése vagy komposztálása, 6.) állattenyésztésben a karanténszabályok szigorú betartása. A humánpatogén vírusok visszaszorításában is jelentős eredményt lehet elérni a megelőző immunizálással (lásd: kötelező védőoltások), az átvivő vektorok visszaszorításával (pl. a szúnyog által terjesztett sárgaláz) és az alapvető közegészségügyi szabályok (pl. vér ellenőrzése HIV-vírusra) betartásával. A jövő egyik jelentős lehetősége lehet a géntechnológia által létrehozott, interferonokat termelő mikroorganizmusok ipari méretű alkalmazása.

9.4. Baktériumellenes vegyületek

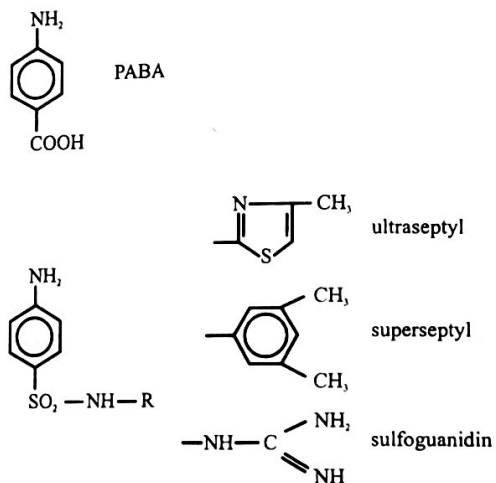
Az első, tudatosan kifejlesztett antibakteriális szintetikus vegyület felfedezése **Paul Ehrlich** nevéhez fűződik. A modern kemoterápia megalapítója feltételezte, hogy léteznek olyan szintetikus vegyületek, amelyek az állati szervezetben **szelektíven** elpusztítják a kórokozókat. 1880 és 1910 között szintetizált 1000 vegyület közül a 606-os, a **salvarsan** bizonyult hatékonynak a szifilisz kórokozója, a *Treponema pallidum* ellen.

Alexander Fleming 1928-ban megfigyelte, hogy a *Staphylococcus aureus* szaporodása gátolt a *Penicillium notatum* telepek környékén. Bizonyította, hogy a gombatenyészet fermentelve, illetve a benne található hatóanyag, a penicillin okozza a baktériumok pusztulását. Az első antibiotikum, a penicillin izolálását és tisztítását 1940-re oldotta meg Howard Florey és Ernst Chain.

9.5. Szintetikus baktériumellenes vegyületek

Szulfonamidok (Ultraseptyl, Superseptyl, Sulfoguanidin)

A szulfonamidok a p-aminobenzoésav szerkezeti analógjai. Ezért gátolják a baktériumok folsavszintézisében fontos szerepet játszó folát-szintetáz enzimet (kompetitív gátlás). Ennek megfelelően csak szaporodásban lévő baktériumokra hatnak, hatásuk bakteriosztatikus. A gyakran fellépő rezisztencia (76%-ban is előfordulhat), a szulfonamid készítmények közötti csaknem teljes keresztrezisztencia, és a mellékhatások (pl. 1-3% gyakoriságú allergiás reakciók) miatt ma már ritkán használjuk G(+) kókuszosk ellen, de ugyanakkor fontos alkotói a TBC elleni kombinált terápiának.



9.1. ábra: A p-aminobenzoésav (PABA) és néhány szulfonamid-származék szerkezeti képlete

Nitrofuránok (Nitrofurantoin)

A baktériumsejt által felvett vegyületből nagy reaktivitású elektrofil metabolitok keletkeznek, amelyek a fehérjeszintézis mellett számos sejtfolyamatot károsítanak. Hatásuk koncentrációtól függően bakteriosztatikus vagy cidikus. Gyorsan szívódik fel és koncentrállódik a vizeletben, ezért húgyúti fertőzések (*Esherichia*, *Klebsiella*, *Staphylococcus*) hatékony gyógyszere. Rezisztencia kifejlődését nem tapasztalták. Egészséges szervezetben is okozhat gyenge allergiás bőrreakciókat és az idegrendszerre gyakorolt hatása miatt gyomor- és bélműködési zavarokat.

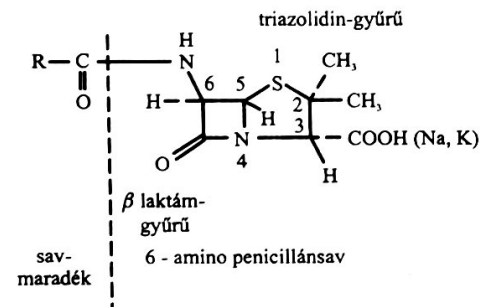
Izonikotinsav hidrazid (INH, Isoniazid)

Kizárólag a *Mycobacterium tuberculosis*ra hatásos. A baktérium nukleinsav – és mikolsav – szintézisét gátolja. Koncentrációtól függően bakteriosztatikus vagy cidikus hatású. Számos mellékhatása ellenére, más hatóanyagokkal kombinációban (rifampicin, pirazinamid) a TBC legfontosabb gyógyszere, mert más tuberkulózis elleni szerekkel nincs keresztrezisztenciája és rezisztens törzsek is csak monoterápia esetén szelektálódnak ki.

9.6. Antibakteriális antibiotikumok

A sejtfallszintézis gátlása

A penicillinek (termelő szervezet: *Penicillium chrysogenum*) és a cefalosporinok (termelő: *Cephalosporium acremonium*, ma *Acremonium chrysogenum*) olyan β -laktám gyűrűt tartalmazó antibiotikumok, amelyek azáltal okozzák az aktívan szaporodó baktériumsejtek lízisét hipotóniás oldatban, hogy gátolják annak a transzpeptidáz enzimnek a működését, amely peptidkötést hoz létre a sejtfal lineáris peptidoglikán-láncai között.



9.2. ábra: A 6-amino-penicillánsav szerkezeti képlete

A 6-amino-penicillánsavból előállított felszintetikus származékok savállókká válnak (pl. penicillin G, G(+)) kókuszkok ellen) növekszik hatásspektrumuk (pl. ampicillin, számos G(+) és G(-) baktérium ellen), vagy ellenállókká válnak a penicillineket inaktiváló, β -laktám gyűrűt hasító penicillináz enzimekkel szemben (pl. meticillin). A penicillinekkel szemben a cefalosporinok általában széles spektrumú, β -laktamáz rezisztens (pl. cefalotin), allergiát nem okozó vegyületcsoport.

A **D-cikloserin** (termelő: *Streptomyces orchidaceus*) azáltal blokkolja a sejtfal-szintézist, hogy gátolja a D-alanin beépülését a sejtfal peptid egységébe. Széles spektrumú antibiotikum. Központi idegrendszerre gyakorolt toxikus hatása miatt csak rendkívül indokolt esetben használják TBC ellen.

A **vankomicin** (termelő: *Streptomyces orientalis*), és a bakteriális plazmidon kódolt, fehérje természetű **bacitracin** (termelő: *Bacillus subtilis*) a sejtfal N-acetilglükózamin és az N-acetil muraminsav közötti kötés létrejöttét gátolják. Az előbbi kizárólag súlyos, penicillin-rezisztens *Staphylococcus* fertőzés esetén használják.

9.7. A fehérjeszintézist gátló antibiotikumok

Aminoglikozid antibiotikumok

Ezen széles spektrumú, „szénhidrát” antibiotikumok elsődleges támadáspontja a prokarióta sejt 30S riboszómaalegységén az S12 fehérje. Ehhez a fehérjéhez kötődve gátolják a szintéziskezdő N-formil-metionin kötését. A fehérjeszintézis során zavarhatják az elongációt, a peptidil-tRNS-kötődést is. A fehérjeszintézis zavara hibás membránfehérjék termelését eredményezi, amely meggyorsítja az antibiotikum bejutását a sejtbe, blokkolva az összes riboszómát, ami a sejt pusztulásához vezet.

A **sztreptomycin** (termelő: *Streptomyces griseus*) toxikus mellékhatásai miatt ma már csak a TBC-terápiában használják alkalomszerűen, ugyanakkor eseti engedély kiadásával alkalmazható növénypatogén baktériumok elleni védekezésre (pl. tüzelhalást okozó *Erwinia* fajok).

A **gentamicin** után az **amikacin** a leghatékonyabb aminoglikozid antibiotikum. Széles spektrumú, hatásos az *Esheria*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* törzsekre. A legtöbb aminoglikozidot inaktiváló enzimnek ellenáll. Rezisztencia ritkán fejlődik ki. Káros mellékhatásuk lehet: a vesekárosodás és neurotoxicitás, érzéstelenítőkkel és izomrelaxánsokkal való kombináció során.

9.8. Tetraciklin antibiotikumok

Az alapszerkezet négy, annulált gyűrűből áll. A mikroorganizmusok érzékenysége transzportfüggő. A doxitetraciklin közvetlenül jut át a sejtmembránon, a többi tetraciklin felvétele aktív transzporttal történik. A 30S riboszóma-alegységhez specifikusan kötődve gátolják az aminoacil-tRNS kötődését a receptorhelyhez. Kelátképző hatásuk miatt gyengítik az aktív állapotú 70S riboszóma létrejöttét, valamint bénítják a légzési lánc vastartalmú enzimeit. Ezen utóbbi hatásuk miatt – magasabb koncentráció esetén – zavarhatják az eukarióták oxidatív foszforilációját. *Streptomyces* fajok termelik az **oxitetraciklint**, a *St. rimosus* a **klórtetraciklint**, míg a leghatékonyabb **doxitetraciklin** felszintetikus származék. Bakteriosztatikus hatásúak mind az extra-, mind az intracellulárisan elhelyezkedő mikroorganizmusokra. Jó hatásúak a G(-) enterális kórokozókra, a rickettsiákra (kiütéses tífusz), a chlamydiákra (trachoma), a mycoplazmákra (primer atipikus pneumóniákban), továbbá brucelózis, tularémia és kolera esetében. Rezisztencia kifejlődése kismértékű, keresztrezisztencia áll fenn az összes tetraciklinszármazék között, de ez nem tapasztalható más antibiotikumok esetén.

9.9. Néhány jelentősebb antibakteriális vegyület

Két további, jól ismert fehérjeszintézis-gátló antibiotikum a **kloramfenikol** (aromás vegyület) és az **eritromicin** (makrolaktám vegyület). Mindkettő a riboszóma 50S alegységéhez kötődve gátolja a fehérjeszintézist. Terápiás dózis mellett bakteriosztatikus hatásúak. A kloramfenikolt (termelő: *St. venezuelae*) erősen toxikus mellékhatásai miatt a gyakorlatban csak felületi kezelésre (kenőcs, sebhintőpor) használjuk. Az eritromicin (termelő: *St. erythreus*) a leghatékonyabb antibiotikum a G(+) kókuszkokkal (pl. *Streptococcus pyogenes*) szemben, hatékonyan használható néhány G(-) baktérium fertőzésére is (*Pasteurella multocida*, *Bordetella pertussis*, *Legionella pneumophila*).

A fentiekben részletezett antibakteriális anyag mellett ma már több mint 8000-et ismerünk. Érdemes megemlíteni ezek közül néhányat, amelyek jelentősebbek az alap kutatásban vagy a gyógyászat szűkebb területén. A **Polimixin B** membrán támadáspontú, baktericid vegyület. A plazmamembrán dezorganizációja a sejtalkotók vesztését és ezen keresztül a baktériumsejt pusztulását eredményezi. A **nalidixsav** a bakteriális DNS topoizomerázt (-girázt) gátolja, megakadályozza a nukleotidok DNS-számba épülését és ezáltal a DNS megkettőződését. A **puromicin** egy tRNS-

analóg, amely kompetitíven gátolja a tRNS-ek kötődését a riboszómákon mind pro-, mind eukarióta sejtekben. Az **actinomicin D** a dsDNS-hez kötődve gátolja az mRNS-ek szintézisét. Néhány esetben a gyorsan szaporodó rákos sejtek szaporodásának gátlására használják. Az **antimicin A** a citokróm b és c között szakítja meg a légzési láncot. A **ciklosporin C** gyenge antibakteriális hatású peptid, amelyet szervátültetésnél immunsuppresszorként használnak.

9.10. Gombaellenes vegyületek

Az eukarióta humánpatogén kórokozókkal szemben csak kevés szelektív hatóanyag létezik, mert a patogén és a gazdaszervezet felépítése és molekuláris folyamatai között elenyésző a különbség. Valamennyi humán- és állatpatogén gomba gyengült-ségi (fakultatív) kórokozó. Az egyén egészségi állapotának, immunrendszerének gyöngülése (újszülöttek, antibiotikummal kezelt csecsemők, rendszeresen hormonhatású szerek és drogokat szedők, diabeteszesek, leukémiás és AIDS-betegek, sugárkezelt tumoros betegek, immunsuppresszorral kezelt szervátültetett betegek) testfelszíni (**dermatomikózis**), bőrfelszín alatti (**szubkután**), vagy **szisztémás** (mélymikózis, szervmikózis) fertőzések kialakulását eredményezheti.

Dermatomikózist okoznak a *Trichophyton*, *Dermatophyton* és *Mycrosporon* fajok. Megtelepedési helyük a haj (hajhullás), a köröm és a testhajlatok. Szubkután fertőzők a *Sporotrich* fajok. Elsősorban a végtagokon és azok hajlataiban találhatók. Szisztémás mikózist okoznak a talajlakó, a porral tudóbe jutó *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis* és a *Cryptococcus neoformans* fajok, a növényeken is szaporodó (kaszás betegség) *Aspergillus fumigatus* (invazív faktora a fumitremorgen B toxin) és más *Aspergillus*, *Penicillium*, illetve *Mucor* fajok. A legfontosabb humánpatogén kórokozó a *Candida albicans*, amely felszíni (szájpenész, hüvely-fertőzés) és mélymikózist is okoz.

5-Fluorocitozin: Olyan bázisanalóg, amely a sejtbe jutva a citozin deamináz hatására 5-fluorouracillá alakul, ezáltal gátolja a timidil szintetáz enzim blokkolásával a nukleinsavsintézist. A szelektivitás alapja, hogy ez a vegyület állati sejtekben alig metabolizálódik. Hatékony *Candida*, *Cryptococcus* és *Aspergillus* fajok ellen. Nem mutat keresztrezisztenciát más gombaellenes szerekkel, mellékhatásai elenyészőek, ennek ellenére adása kombinált kezelésben ajánlott, mert gyakori (20–50%) az elsődleges (kezelés nélküli), illetve a másodlagos (kezelés alatt kifejlődött) rezisztencia.

Griseofulvin: A *Penicillium griseofulvum* által termelt, vízben rosszul oldódó benzofurán származék. Orálisan adagolható fungisztatikus szer, szelektíven felhalmozódik az epidermiszben, a körömágyban, illetve a hajgyökér keratinjában, ezért a dermatofitonok ellen hatásos. A gombasejt aktív transzporttal veszi fel. Elsődleges támadáspontja a mikrotubulusokhoz kapcsolódva a mitózis gátlása (haploidizáló szer). Rezisztencia ritka, keresztrezisztencia más antibiotikummal szemben nem ismeretes.

Polién antibiotikumok: *Streptomyces* fajok (**nisztatin:** *St. noursei*; **amfotericin B:** *St. podosus*) által termelt, makrociklusos laktonok, konjugált kettős kötésekkel (fényadszorbeáló, sárga vegyületek, fény- és hőérékenyek). Koncentrációtól függően sztatikus vagy cidikus hatásúak. A plazmamembrán szterinjeivel, a szterin típusától függően, ún. addíciós molekulakomplexet képeznek, amely a membrán dezorganizációjához, a szemipermeabilitás elvesztéséhez és ezen keresztül K^+ ion, illetve más sejtalkotók (aminosavak, bázisok stb.) vesztéséhez, kiáramlásához vezet. A dermatomikózist okozó gombák kivételével minden más humán és állatpatogén gomba ellen hatásos szerek. Orálisan adagolva a vizeletben koncentrálnak, tartós kezelés esetén ezért súlyos vesekárosodást okozhatnak. A nisztatin csak lokális kezelésre a bőr és nyálkahártyák candidiázisában mellékhatás nélkül használható anyag. Az amfotericin B parenterális alkalmazása csak súlyos mélymikózis esetén indokolt.

Azolok: Széles spektrumú, fungisztatikus imidazolszármazékok. A gombasejt szterinszintézisének a C14-es demetilációt ezerszer erősebben gátolják, mint az állati sejtekét. A C14-en metilált szterinek felhalmozódása a citoplazma membrán dezorganizációját okozzák, amely a sejtek pusztulását eredményezi. Kezelést követően rezisztens törzsek megjelenésével lehet számolni, gyakori a keresztrezisztencia polién antibiotikumokkal szemben. Dermatomikózis esetén a **mikonazolt** és a **klotrimazolt**, mélymikózis esetén a **flukonazolt** használják *Candida* és *Cryptococcus* fajok ellen.

Benomil: Széles spektrumú, szintetikus benzimidazol származék, amelynek a sejtben létrejött metabolitja, a metil-2-benzimidazol karbamát az aktív. A húzófonalak monomerjeihez kötődve gátolja a mitózist. A növényvédelemben általánosan használt szisztémás növényvédőszer, hatékony eszköze a fuzáriumos kártételek csökkentésének.

A **kinokardin:** az élesztőgombáknál a β -1,3 glukánpolimer és a **polioxin D**, mint N-acetil-D-glükózamin analóg, a kitin szintáz kompetitív gátlásával sejt felszín-tézis-gátlók. Az eukarióta légzési lánc gátló vegyületek közül jelentősebbek az **antimicin** (citokróm b-re hatva megszakítja a citokróm b és c között a légzési láncot), az **oligomicin** (az ATP-szintézist az ATPáz blokkolásával gátolja), a **pirrolnitrin** az ubikinon előtti flavoproteinek közötti elektronátadást blokkolja.

9.11. Antimikrobiális anyagokkal szembeni rezisztencia

Klinikai, illetve növénykórtani szempontból **rezisztenciáról** akkor beszélünk, ha egy adott izolátum, szemben ugyanazon faj más izolátumaival a terápiás hatású hatóanyag-koncentráció jelenlétében is szaporodik. A rezisztens izolátum 10–1000-szeres hatóanyag-koncentráció elviselésére is képes lehet, ha ennél alacsonyabb (2–10-szeres) az ellenállóképessége, akkor **toleranciáról** van szó. **Természetes rezisztenciának** nevezzük azt a jelenséget, amely a filogenezis során jön létre és azt eredményezi, hogy egy adott élőlénycsoportban hiányzik a célmolekula vagy az anyagsere-folyamat, amely miatt érzéketlen számos más élőlénycsoportban hatékony antimikrobiális szerre. A vírusok például ezért „rezisztensek” a legtöbb antibakteriális és antifungális hatóanyaggal szemben. Minden eddig ismert *Pseudomonas aeruginosa* izolátum rezisztens a penicillinekkal szemben, mert membránja átjárhatatlan az antibiotikum számára.

Fenotípusos rezisztenciának vagy toleranciának nevezhetjük mindazon tényezőt, amely egy adott faj kvantitatív rezisztenciaviszonyait befolyásolja. Ilyen a **tenyészet kora**: nyugvó fázisú tenyészetek a csökkent hatóanyag-felvétel miatt jelentősen ellenállóbbak lehetnek egy-egy konkrét antimikrobiális szerrel szemben. A **sejtciklus fázisai**: a vegetatív, aktívan szaporodó baktérium- vagy gombasejtek érzékenyebbek mint kitaró képleteik az ivartalan úton létrejött gombaspórák vagy a *Bacillus* és *Clostridium* fajok endospóriái. Az *Oomycota Peronospora parasitica* sejttel nélküli rajzospóriái elpusztulnak 0,5–1,5% CuSO_4 koncentrációnál, míg micéliumai, ivari képletei nem. A **tápközeg összetétele**: a szterint nem tartalmazó *Acholeplasma laidlawii* szterin tartalmú táptalajon növe polién antibiotikummal szemben érzékennyé válik.

A **genotípusos rezisztenciának** két típusát különíthetjük el.

(i) A **mutációs rezisztencia** a mikroorganizmus kromoszómájában bekövetkező változások (pont- és kromoszómamutációk, intra- és interallelikus rekombinációk, transzpozon okozta változások stb.) eredményezik a rezisztenciát. A terápiás kezelés során a hatóanyag jelenlétében ezen mutánsok szelektív előnybe kerülve **feldúsulhatnak**. Ilyen mutánsok szelektálódnak ki sztreptomycinnel szemben, ha a baktérium riboszómáját (30S alegység) kódoló génben egyetlen pontmutáció jön létre, amely lehetetlenné teszi a hatóanyag kötődését. Ebben az esetben a **célmolekula változása** eredményez rezisztenciát.

Ez a mutáció magasfokú, ún. **egylépcsős** rezisztenciát eredményez. A **többlépcsős** rezisztencia (pl. tetraciklinnel szemben) a rezisztencia fokának időben egymást követő lépcsős emelkedése, több mint egy kromoszómamutáció eredménye. A baktériumoknál a tetraciklinekkel szembeni rezisztencia kialakulásának másik oka a **felvételi rezisztencia**. Ebben az esetben a kromoszómamutációk a membrán össze-

tételét, illetve a transzport fehérjéket úgy változtatják meg, hogy jelentősen lecsökken az antibiotikum felvétele. Mutációk, amelyek megváltoztatják a *Staphylococcus aureus* törzsekben a **biokémiai utat** szulfonamid rezisztenciákhoz vezetnek.

(ii) Az **átviteli rezisztencia** a legjelentősebb rezisztenciamechanizmus. Ez történhet a **konjugáció** során, ha a donorsejtből az extrakromoszomális, rezisztens **R-plazmid** (dsDNS) átjut a recipiens sejtbe. A rezisztencia átadásában bizonyítottan szerepe van a **transzdukciónak** és a **transzformációnak** is. R-plazmid átadása G(–) baktériumfajokon belül a törzsek között általános (*Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*), de bekövetkezhet fajok között is. Így kerülhet át **polirezisztens** plazmid (szulfonamidokkal, tetraciklinekkel, kloramfenicollal, sztreptomycinnel stb. egyidőben ellenálló) *Salmonella* fajokból *Escherichia coli* törzsekre. A polirezisztens törzsek kialakulásának folyamatát lassítja az a számos országban élő rendelet, mely szerint antibiotikum tartalmú állati takarmányok etetése tilos. Az R-plazmidokon olyan induktív enzimeket termelő gének találhatóak, amelyek **inaktiváló enzimeket** kódolnak. Ezek a β -laktamázok, vagy penicillázok (a penicillinek vagy cefalosporinok β -laktám gyűrűjét hasíthatják), az acetyl-traszferázok (a kloramfenicol inaktiválása acetilálás útján, pl. *Haemophilus* törzseknél), vagy inaktiválás történhet enzimatis foszforilálással (pl. gentamicin inaktiválása G(+) baktériumoknál).

Az antimikrobiális anyagok alkalmazása az utolsó és talán legköltségesebb eszköze a humán és állatgyógyászatnak, valamint a növényvédelemnek. Általános hatása és gazdasági jelentősége kellően nem méltatható. A gazdasági globalizáció erősödése, a nemzetközi turizmus fejlődése, a migráció fokozódása mellett egyre nagyobb jelentőségű az államilag szabályozott karantén, járványügyi és közegészségügyi szabályok fejlesztése, a kórházi és egyéni higiéniai feltételek javítása, a tudatos, egészséges életmód, életvitel kialakítása, hogy a humán és humánpatogén populációk közötti jelenlegi egyensúly tartható legyen.

MARÁZ ANNA

10. MIKROBIÁLIS BIOTECHNOLÓGIA



Ebben a fejezetben a sokszor „Új biotechnológia” néven emlegetett területet mutatjuk be, amely szorosan kapcsolódik az ipari mikrobiológiához és egyéb alkalmazott mikrobiológiai területekhez is. Ami közös bennük, az a *génsebészeti módszer*, más néven *molekuláris klónozás* alkalmazása, melynek eredményeként *genetikailag módosított organizmust* (GMO-t) állítanak elő. Amennyiben az organizmus mikroba, ez eredmény *genetikailag módosított mikroorganizmus* (GMM) lesz.

10.1. A génsebészet alapjai, molekuláris klónozás

Az a módszer, amely az utóbbi évtizedekben korábban még sohasem tapasztalt mértékben forradalmasította a biológiát, nem hagyta érintetlenül az élet szinte egyetlen területét sem. A módszer lényege sokféle elnevezése ellenére röviden összefoglalható a következőkben: egy élő sejtbe olyan idegen gént juttatunk be mesterségesen, amelyet ez a sejt saját génjeinek (DNS-ének, genomjának) megsokszorozása (replikációja) alkalmával szintén megsokszoroz, szaporodása során pedig ezt az idegen gént továbbörökíti az utódsejtekbe. A módszer elnevezésében sokszor tükröződik a tudományos pontosság (pl. molekuláris klónozás, *in vitro* rekombináns DNS technika, génklónozás), vagy pedig utal a génekbe való mesterséges (emberi) beavatkozásra (pl. génsebészet, génmérnökség = genetic engineering, genetikai vagy géntechnikai módosítás, sőt genetikai manipuláció).

Jóllehet az emberiség évszázadok óta kihasználja az élőlények öröklődő tulajdonságainak természetes megváltozásában rejlő lehetőségeket, például a szelekción alapuló nemesítés vagy tenyésztés alkalmával, sőt mesterségesen hoz létre öröklődő változásokat a génekben az indukált mutáció eszközével vagy keresztezésekkel, azonban egy organizmus génjeinek sejten kívüli (*in vitro*) módosítására, majd ettől akár nagyon távoli fajok örökítő anyagába történő stabil beépítésére csak ez a módszer alkalmas.

10.1.1. A molekuláris klónozás

A módszer kidolgozásához több olyan felfedezésen keresztül vezetett az út, amelyek az 1970-es években a molekuláris genetikában születtek. A DNS-t meghatározott helyen hasító **restriktív endonukleázok** felfedezése mérföldkőnek tekinthető, amelyek segítségével a sejtől kivont DNS-ből nagyszámú, de kisméretű, a hasítási helyeken azonos nukleotid sorrendet tartalmazó fragmentum állítható elő. Szükség volt még olyan DNS-molekulák izolálására, előállítására, amelyek biztosították ezeknek a fragmentumoknak a sejten belüli fennmaradását, megsokszorozását. Ezek a **vektorok**. Ki kellett dolgozni annak módszerét is, hogy a DNS-fragmentumot a

vektorral összekapcsolják (ligálják), majd pedig bejuttassák a célsejtbe (recipiensbe). Az így létrehozott, rekombináns DNS-molekulát tartalmazó sejtet és genetikailag azonos utódait klónnak tekintjük.

A molekuláris klónozás legfontosabb lépései:

- 1.) A klónozáshoz használt DNS izolálása, fragmentálása restriktív endonukleázokkal.
- 2.) A DNS-fragmentum beépítése a klónozó vektorba: a rekombináns DNS-molekula *in vitro* előállítása
- 3.) A rekombináns DNS bejuttatása a gazdasejtbe.
- 4.) A rekombináns DNS-t tartalmazó klón kimutatása, izolálása.

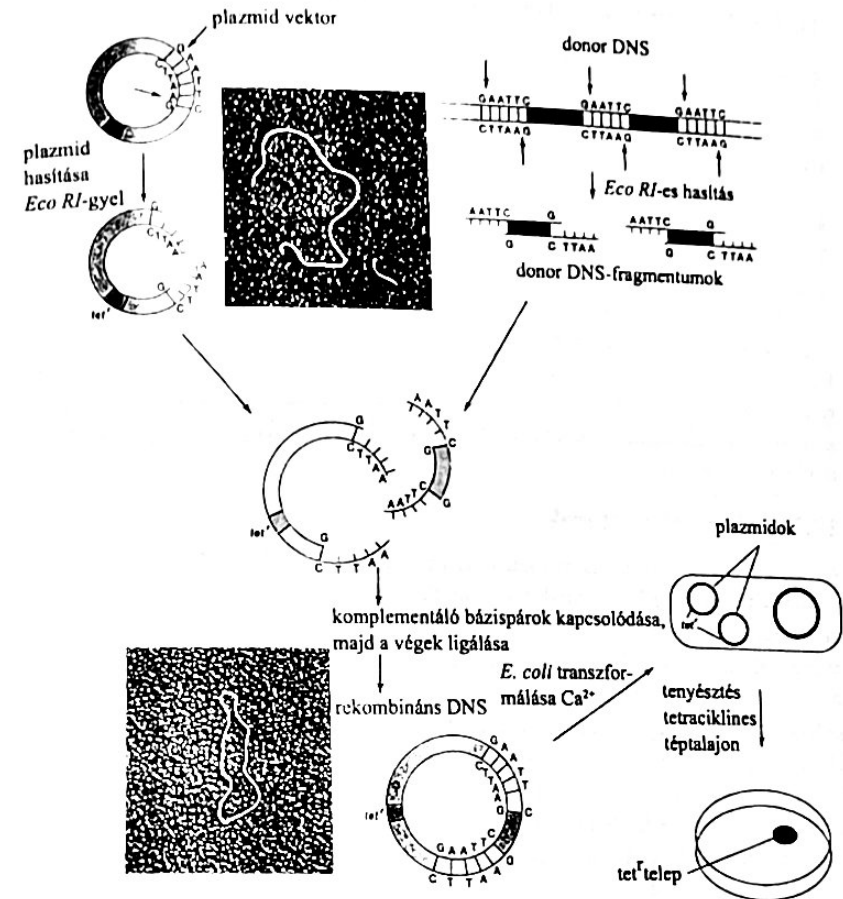
Az élőlényeknek fejlettségük szerint nemcsak sejtfelépítésük tér el lényegesen, hanem az öröklődő tulajdonságokat hordozó genomjaik szerkezete, szerveződése, az egyes gének felépítése, szabályozása is. Ennek megfelelően nem meglepő, hogy a klónozott gén által hordozott tulajdonság megnyilvánulása, kifejeződése (*expressziója*) a gazda organizmusban (fajban) optimális, míg a rendszertani, evolúciós távolság növekedésével ez csökken, sőt el is maradhat. Ebből kifolyólag nincs általánosan alkalmazható klónozási stratégia, a DNS izolálásától kezdve a klónozó vektor típusa, a rekombináns DNS bejuttatásának, a rekombináns klón izolálásának módszere eltérő, de az adott élőlényre jellemző sajátosságokat mutatja. Legnagyobb különbség a baktériumok és a az eukarióta élőlények között van, míg utóbbiak esetében (pl. gombák, növények, állatok) a hasonlóság az említett szempontok szerint lényegesen nagyobb. A klónozási kísérletekben gyakran alkalmazott eukarióta mikroorganizmusról, az élesztőgombáról (*Saccharomyces cerevisiae*) azt tartják, hogy genetikai szempontból sokkal inkább hasonlít az elefánthoz mint egy baktériumhoz.

Legkorábban a baktériumoknál, közülük is az *Escherichia coli*-nál valósították meg a molekuláris klónozást, ezt követte a mikrogombák, majd pedig az állatok és a növények genetikai módosítása.

Az *in vitro* genetikai módosítás általános menetét a 10.1. ábrán mutatjuk be.

10.1.2. A klónozáshoz használt nukleinsavak izolálása, előállítása

A nukleinsavak forrása lehet az élőlény teljes örökítő anyaga (genomja), de származhat annak egy részéből is (pl. egy-egy kromoszóma, organellum DNS, plazmidok). A magasabbrendű élőlényeknél gyakori az mRNS-ről reverz transzkriptáz enzimmel „visszaírni”, már csak az eredeti gén kódoló részét (exonjait) tartalmazó DNS előállítása. Ebben ugyanis már nem található meg a transzkripció (átírás) után kivágódó szakaszok, az intronok. Mivel az intront tartalmazó gének megfelelő vágása (splicing) csak az eukariótáknál létezik, baktériumoknál nem, így a baktériumban klónozott növényi vagy állati génekről készült fehérjék az intronok nukleotidjai



10.1. ábra: Rekombináns plazmid előállítása *E. coli*-ban.
(*EcoRI*: restriktív endonukleáz, *tet^r*: tetraciklin rezisztencia)

által meghatározott aminosavakat is tartalmazzák, ebből következően pedig működésképtelenek. Újabban polimeráz láncreakció (PCR-technika) segítségével is elő lehet állítani a teljes klónozó gént, aminek nagy előnye, hogy ilyenkor csak a keresett gént tartalmazó DNS-molekula szaporodik fel, azaz célzottan lehet a gént előállítani.

10.1.3. A rekombináns DNS *in vitro* előállítása

A sejtekből kivont DNS-t restrikciós endonukleázzal olyan kisméretű (általában néhány ezer bázispár hosszúságú) fragmentumokra hasítják, amelyek mind azonos szekvenciájú, ún. ragadós végeket tartalmaznak. Ha egy másik DNS-molekulát, például a klónozó vektort ugyanezzel a restrikciós endonukleázzal emésztjük, ugyanilyen ragadós végek alakulnak ki a hasítási helyeken. A kivont DNS hasítási termékei a komplementáló bázispárokon keresztül összekapcsolódnak a vektorral, ezáltal hibrid (rekombináns) DNS-molekulák (chimerák) jönnek létre. Az összetapadt DNS-szakaszok végei között a kovalens kötést ligáz enzimmal hozzák létre.

A 10.1. táblázatban a leggyakrabban használt restrikciós endonukleázokat és specifikus hasítási helyeiket mutatjuk be. Ezeknél az enzimeknél a felismerési és hasítási hely azonos, továbbá a DNS két szálát tekintve szimmetrikus. A szimmetrikusság azt jelenti, hogy azonos (pl. 5' → 3') irányban haladva a két szálon a felismerési hely nukleotid szekvenciája megegyezik, a hasítás pedig ugyanazon két nukleotid közé esik.

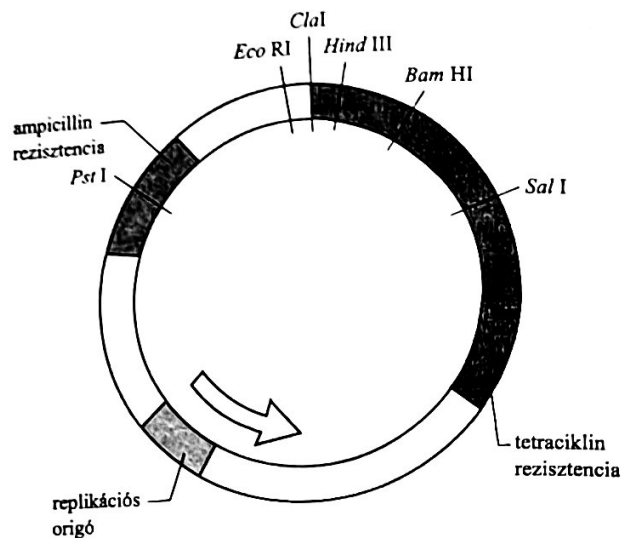
10.1.4. Klónozó vektorok

A klónozó vektor szerepe, hogy biztosítsa a vele összeépített DNS-fragmentum fennmaradását a gazdasejben azáltal, hogy önállóan vagy a gazdasejt DNS-ébe beépülve (integrálódva) a sejtosztódás során replikálódni képes. Baktériumoknál leggyakrabban alkalmazott klónozó vektorok a **plazmidok**, amelyek előnye az önálló replikáció mellett még nagy (20–50-es) kópiaszámuk is, mivel így a klónozott gén példányszáma is megnő. A kópiaszám a fehérjeszintézis részleges gátlásával akár 1000–3000-re is növelhető. A plazmid vektorok egy vagy több antibiotikum rezisztencia gént is hordoznak (pl. ampicillin, tetraciklin rezisztencia), amelyek segítségével a rekombináns DNS-t tartalmazó sejt az antibiotikumot tartalmazó táptalajon könnyen szelektálható. Több restrikciós enzim számára kialakított egyedi restrikciós helyet is tartalmaznak, ahová a klónozott gén beépíthető. A 10.2. ábrán az elsők között létrehozott olyan *E. coli* vektort mutatjuk be, amelyet két plazmid (colicin és antibiotikum rezisztencia plazmid) összeépítésével alakítottak ki, majd fejlesztettek tovább más hasznos szekvenciák beépítésével. A plazmid vektorok hátránya, hogy csak viszonylag kicsi (10 kb alatti) DNS-fragmentumok befogadására képesek, a sejtek szaporodása során pedig, ha nincs szelektációs nyomás a fennmaradásukra (pl. antibiotikum-mentes táptalajon), kihígulnak, majd eltűnnek a sejtekből. Bejuttatásuk transzformációval történik, amelynek hatásfoka (gyakorisága) erősen változó, és több tényezőtől függ. Ezek a baktérium plazmidok ráadásul eukarióta sejtekben már nem képesek replikálódni, így alkalmazhatóságuk a baktériumokra korlátozódik.

A *Saccharomyces* élesztőgombánál szerencsére megtalálható egy másik plazmid, amely viszont speciálisan csak itt replikálódik (2 μm-es plazmid). Ebből

A restrikciós endonukleáz jelölése	Termelő mikroba	Hasítási hely
<i>Bam</i> HI	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> H	↓ 5'-G-G-A-T-C-C-3' 3'-C-C-T-A-G-G-5' ↑
<i>Bcl</i> I	<i>Bacillus caldolyticus</i>	↓ 5'-T-G-A-T-C-A-3' 3'-A-C-T-A-G-T-5' ↑
<i>Eco</i> RI	<i>Escherichia coli</i> R	↓ 5'-G-A-A-T-T-C-3' 3'-C-T-T-A-A-G-5' ↑
<i>Eco</i> RII	<i>Escherichia coli</i> R	↓ 5'-C-C-T-G-G-3' 3'-G-G-A-C-C-5' ↑
<i>Hae</i> III	<i>Hemophilus aegyptius</i>	↓ 5'-G-G-C-C-3' 3'-C-C-G-G-5' ↑
<i>Hin</i> dIII	<i>Hemophilus influenzae</i> d	↓ 5'-A-A-G-C-T-T-3' 3'-T-T-C-G-A-A-5' ↑
<i>Pst</i> I	<i>Providencia stuartii</i>	↓ 5'-C-T-G-C-A-G-3' 3'-G-A-C-G-T-C-5' ↑
<i>Sau</i> 3A	<i>Staphylococcus aureus</i>	↓ 5'-G-A-T-C-3' 3'-C-T-A-G-5' ↑
<i>Sal</i> I	<i>Streptomyces albus</i>	↓ 5'-G-T-C-G-A-C-3' 3'-C-A-G-C-T-G-5' ↑

10.1. táblázat: A leggyakrabban használt restrikciós endonukleázok és specifikus felismerési és hasítási helyeik



10.2. ábra: A pBR322 plazmid vektor szerkezete.
(Sal I, Bam HI, Hind III, Cla I, Eco RI, Pst I: restriktions hasítóhelyek)

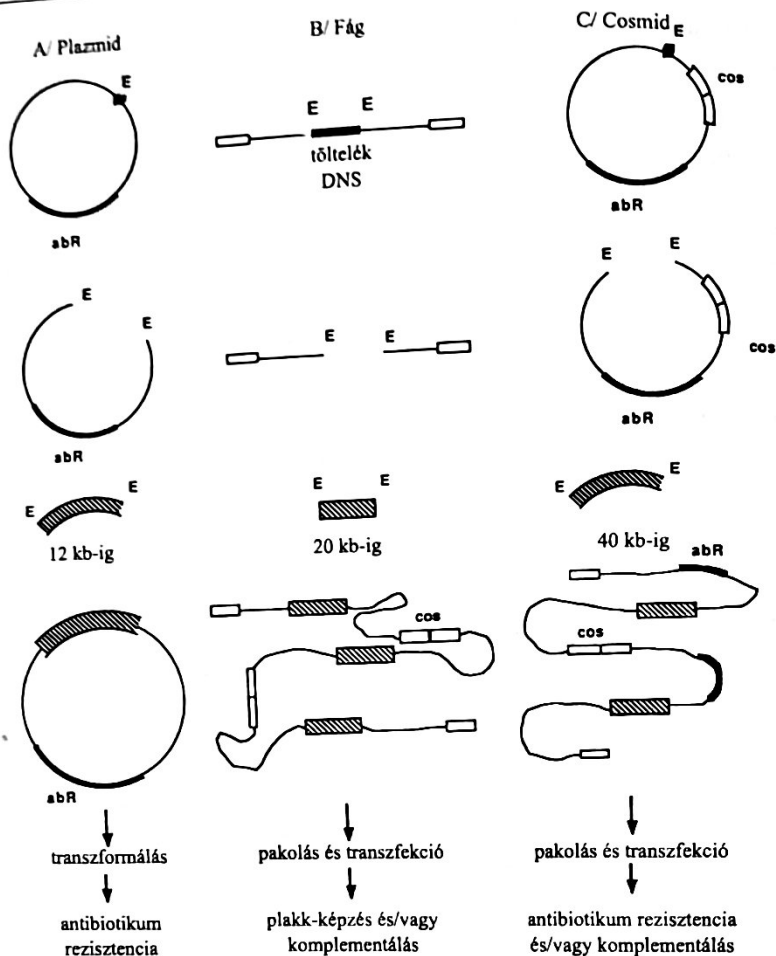
alakították ki az **élesztő plazmid vektort**, szelekciót biztosító (pl. *LEU2* vagy *URA3*) gén beépítésével. Ez a vektor azonban csak *S. cerevisiae*-ben tud autonóm módon (kromozómáktól elkülönülten) replikálódni, más fajokban nem.

Állati sejtekben önállóan replikálódó plazmid nincs, növényekben történő klónozáshoz azonban jól alkalmazható egy tumor indukáló baktérium, az *Agrobacterium tumefaciens* **Ti-plazmidja**. Természetes fertőzéskor a Ti plazmidnak csak egy része, a **T-DNS** kerül be a növénybe. A vektor a T-DNS két terminális szekvenciáját tartalmazza, amelyhez a szelekció szempontjából szükséges (növényben és baktériumban expresszálandó) antibiotikum rezisztencia markerek kapcsolódnak. Mind *A. tumefaciens*, mind pedig *E. coli* eredetű replikációs origót tartalmaz, így nemcsak az eredeti gazdasejtben, hanem *E. coli*-ban is tud replikálódni. A klónozendó DNS beépítése után a rekombináns plazmidot többnyire *E. coli*-ba transzformálják, ahonnan általában konjugációval juttatják be *A. tumefaciens*-be. A növényt megfertőzik a baktériummal, amelyből a klónozott gén beépül a gazdanövény kromozómájába. Kétszikű növényeknél a T-DNS-eredetű vektorok kiterjedten alkalmazhatók, egyszikűeknél azonban nem. Ezeknél a később ismertetésre kerülő génpuska módszert használják idegen gén bevitelére.

A **vírusok**, amelyek természetes körülmények között is gyakran visznek át géneket a megtámadott sejtek között, génklónozásra is alkalmassá tehetők. Az állatokban, emberi szövetnyészetekben alkalmazható vektorok többsége ilyen (pl. SV40, adenovírusok, baculovírusok).

A **bakteriofágok** közül az *E. coli*-ban specializált transzdukcióra képes λ fágból hoztak létre génklónozásra kiválóan alkalmas vektorokat. Két típusuk ismeretes: az inzerációs és a helyettesítési vektorok. Az **inzerációs vektorok** esetében a litikus fág kialakulását represszáló génbe építik be az idegen gént, vagyis ez tartalmazza a klónozó helyet. Ennek következtében az inzertet tartalmazó fág vektor lizálja a baktériumot, míg az ép vektor nem. A **helyettesítési vektorok** esetében a λ fág DNS-ének egy részét kivágták, amelynek helyére idegen DNS-fragmentumok építhetők be. Könnyű szelekciót tesznek lehetővé azok a helyettesítési vektorok, amelyeknél a kivágott rész helyére beépítették a β -galaktozidáz enzim génjét, így a vektort hordozó sejtek X-gal festéket tartalmazó táptalajon felismerhetők (a β -galaktozidáz enzim kék vegyületet szabadít fel a szintelen szubsztrátumból, ezért a β -Gal gént hordozó telep kék színű lesz). A fág szaporodásához nem szükséges DNS-szekvenciák helyére ültetik be az idegen gént, amely maximálisan 20 kb méretű lehet. A fág és az idegen DNS-t ligázal kapcsolják össze, amelyet aztán előzetesen preparált fágfehérjékbe építenek be (ún. pakolás). Ezekkel a mesterséges fágreszecskékkel megfertőzik az *E. coli* sejteket, amelyeket szaporodás után a fág lizál, így a rekombináns DNS-molekulák a plakkokból izolálhatók. A λ fág eredetű vektorok előnye a plazmid vektorokkal szemben, hogy nagyobb gyakoriságú átvitelt biztosítanak, valamint az, hogy az üres vektor vagy a kisméretű DNS-t (inzertet) tartalmazó vektor nem pakolódik be a fágfehérjékbe. Hátrányuk viszont, hogy nagyméretű, klónozott inzert hordozása esetében inaktiválódnak, és a gazdasejtet lizálják.

Ezeket a problémákat megszünteti a λ fág ragadós végeiből (*cos* szekvenciák) és egy *plazmidból* összeépített **cosmid**. A *cos* szekvenciák ahhoz szükségesek, hogy a λ fág DNS-e bepakolódjon a fágfehérjékbe. A *cosmid* plazmid eredetű szekvenciái biztosítják a gazdasejtben (*E. coli*-ban) történő autonóm replikációt, valamint a szelekciót (pl. antibiotikum rezisztencia kódolása útján). A bepakolódott cosmidot fágfertőzéssel juttatják be a gazdasejtbe, ott azonban már sokkopiás plazmidként replikálódik. Ez azzal az előnnyel jár, hogy a kívánt gén bevitelére az általában rosszabb hatásfokú transzformáció helyett a nagyobb gyakoriságú géntvitelt biztosító fágfertőzés alkalmazható. A cosmidok alkalmazásának további előnye, hogy nagyméretű (kb. 45 kb) inzertek klónozását teszik lehetővé, ezért különösen hasznosak génbankok előállításához. A **génbank** olyan klónokból áll, amelyek egy adott élőlény valamennyi génjét legalább egy kópiában tartalmazzák klónozott formában. Minél nagyobb egy élőlény genomja, annál több klón szükséges ehhez. A 10.3. ábrán a különböző prokarióta klónozó vektorokat hasonlítjuk össze.



10.3. ábra: Prokarióta klónozó vektorok és jellemzőik.
(*abR*: antibiotikum rezisztencia, *E*: restriktions enzim hasítóhelye)

A klónozás során gyakran szükséges egy baktériumban klónozott génnek más baktériumban vagy eukarióta sejtben való újraklónozása vagy fordítva. Erre a célra fejlesztették ki a találónan *inga* (*shuttle*) vagy *bifunkciós vektoroknak* nevezett DNS-molekulákat, amelyek képesek egymástól távol álló szervezetekben is replikálódni. Ezáltal a klónozott gén átvihető az új gazdasejtbe anélkül, hogy a vektorból ki kellene vágni, majd egy új vektorba beépíteni. Vannak olyan cosmidok, amelyek nem-

csak prokarióta, hanem eukarióta (pl. élesztő plazmid) szekvenciákat is hordoznak, így az *E. coli*-ban elkészített génbankból közvetlenül átvihető a rekombináns DNS-molekula eukarióta sejtbe (élesztőgombába) transzformációval.

A kromoszómák replikációjához és fennmaradásához elengedhetetlenül szükséges kromoszómáriszek összeépítésével hozták létre az élesztő mesterséges kromoszómát (más néven minikromoszómát), a **YAC vektort**. Ezek a szekvenciák a *centromer*, a replikációs origót tartalmazó *replikon* és a két *telomer*. A YAC vektorba hatalmas, 50–200 génnek megfelelő (200–800 kb méretű) idegen DNS-darabok is beépíthetők, ezáltal klónozzhatók. Ez tette lehetővé a *Humán Genom Projekt (HGP)* elindítását, melynek keretében nemzetközi összefogással klónozzák, térképezik és szekvenálják a teljes haploid humán genomot, majd meghatározzák az egyes gének funkcióját, szabályozottságát. Később azonban áttértek a BAC vektorokra (bakteriális mesterséges kromoszóma), mivel az technikailag könnyebben kezelhető.

10.1.5. A rekombináns DNS bejuttatása a gazdasejtbe

Szabad, nem sejt szerkezethez kötött DNS-molekulák az élőlények sejtjeibe ritka kivételtől eltekintve nem jutnak be. Ezért mesterségesen kellett kialakítani ennek módszereit, eltávolítva a felvételt korlátozó akadályokat, pl. a sejtfalat protoplasztok képzése útján. Baktériumsejtek nagy kalcium-klorid-tartalmú oldatban már felveszik a DNS-t, amely a genommal együtt replikálódva genetikailag megváltoztatja, **transzformálja** a sejtet, ezért ezt a módszert transzformációnak hívják. Nagyfeszültségű elektromos impulzus hatására a legtöbb élőlény sejtje átjárhatóvá válik a külső DNS-molekulák számára, a sejtmembránon keletkező pórusokon keresztül bejut a citoplazmába, sőt a sejtmagba is. Ez a módszer az **elektroporáció**. A klónozó vektorok nemcsak biztosítják a hordozott gén megsokszorozását a gazdasejtben, hanem meg is védik annak nukleáz enzimeitől.

Viszonylag nagyméretű sejtbe, mint amilyenek a növények és állatok sejtjei, a vektorba épített, de sokszor egyszerűen csak a feldarabolt DNS-t **gépuskával** lövik be. A bejuttatni kívánt DNS-sel bevont mikrohordozóból lövedéket alakítanak ki, amelyet mechanikai lövedék szerkezettel, nagynyomású gázzal vagy elektromos kisüléssel juttatnak be a sejtbe.

Az idegen gének a sejtben nem mindig replikálódnak önállóan, autonóm módon, hanem sokszor beépülnek, **integrálódnak** az élőlény kromoszómáiba egy, maximum néhány olyan helyre, ahol szekvenciájukkal megegyező (homológ) szakaszt találnak. Ilyenkor természetesen a beépült gén kópiaszáma alacsony lesz, viszont az integrálódott gén genetikailag nagyon stabil lesz, mivel a gazdasejt a gént a kromoszómák megkettőződése során sajátjaként örökíti tovább.

Az idegen gént hordozó élőlényeket szokás **transzgenikus növényeknek, állatoknak** vagy **mikrobáknak** is hívni.

10.1.6. Géntárak, klóntárak

Ha egy élőlény teljes genomját feldaraboljuk, majd megfelelő vektorba beépítve random módon a gazdasejtbe transzformáljuk, a sejtek különböző klónozott DNS-darabokat fognak hordozni. Elegendő számú rekombináns klón izolálása esetén a genom minden egyes génje legalább egyszer megtalálható lesz ezekben a klónokban, azaz a klónok reprezentálják az élőlény teljes genomját. Ezen klónok együttesét **géntárnak**, **klóntárnak**, **DNS-tárnak** vagy **génbanknak** nevezzük, amelyek értékes génforrások a gének molekuláris analiziséhez vagy további klónozási munkákhoz.

Eukarióta szervezetek esetében géntárak létrehozhatók az mRNS-molekuláknak reverz transzkriptáz segítségével cDNS-sé történő visszairásával is. Az ilyen cDNS géntárak nagy előnye, hogy már csak az aminosavak kódolásához szükséges génszakaszokat (exonokat) tartalmazzák, az intronokat nem, így baktériumokban vagy más eukarióta szervezetekben nagyobb eséllyel nyilvánulnak meg a klónozás során. Hátrányuk viszont, hogy a további átírást lehetővé tevő és a szabályozásért felelős **promoter szakaszt** sem tartalmazzák, így további klónozásuk csak promotert tartalmazó vektorral valósítható meg. Ebből következően nem kapunk információt arról sem, hogy a gén az eredeti környezetben milyen szabályozás alatt áll.

10.1.7. A megfelelő klón kimutatása, izolálása

A nagyszámú, sokszor több ezer rekombináns klón között megtalálni azt, amely a számunkra értékes gént tartalmazza, hasonló feladat, mint egy tű megkeresése a szénakazalban, de nem annyira reménytelen. Köszönhető ez annak, hogy a kutatók kifejlesztettek olyan szondákat, amelyek célzottan hozzákötődnek a keresett génhez és még láthatóvá is teszik, jelzik azt. Ezek a **jelölt génpróbák**, amelyek a keresett gének egy rövid, radioaktívan vagy más módon jelölt szakaszát tartalmazzák. A próba DNS az egyszálúsítást követően a bázispárosodás szabályai szerint hozzákötődik a szintén egyszálúsított, klónozott DNS-molekulák közül azokhoz, amelyek vele azonos (homológ) szakaszt tartalmaznak. Így akár néhány ezer telep vagy rekombináns DNS-molekula között is megtalálható a keresett klónozott gén.

Ha nem áll rendelkezésre információ a keresett gén szekvenciájáról, azonban tudjuk, hogy mi a kódolt fehérje feladata a sejtben, továbbá a gazdasejtben új (ún. heterológ) fehérjeként termelődik, azaz a gén megnyilvánul, expresszálódik, ilyenkor is biztosan kimutatható a jelenléte. Ha például egy új enzimet termel a sejt, amely a szintelen szubsztrátumból színes anyagot szabadít fel, az új gént hordozó sejt, illetve telep színes lesz, mint ahogy ezt a **β -galaktozidáz gén** kimutatásánál már láttuk. A szentjánosbogár klónozott **luciferáz génje** világítóvá teszi a transzformált gazdasejtet. Ezek a módszerek arra is alkalmasak, hogy nem kimutatható géneket a hozzájuk kapcsolt **tudósító (riporter) gén** alapján meg lehessen találni. Egy másik

ilyen módszer, amikor a klónozott gén működése következtében a sejtben megjelenő új, antigén hatású vegyületet a vele szemben termelt, hozzá specifikusan kötő ellenanyagok segítségével, a nagy érzékenységukről ismert **immunológiai módszerekkel** mutatjuk ki.

10.1.8. A génkifejeződés feltételei

A géntechnológiai módosítás célja az, hogy a klónozott gén a szükséges időben és mértékben fejeződjön ki (expresszálódjon) a gazdasejtben. Természetes, hogy ez a kívánalom klónozásról klónozásra eltér, azonban alapfeltétel, hogy a klónozott gén egyáltalán **kifejeződjön** az új gazdában. Ez pedig már alapvetően attól függ, hogy a gazdasejt fehérjeszintetizáló rendszere kezelni tudja-e az új gént, azaz megfelelően **átírja-e** mRNS-sé, majd pedig ez a riboszómákon megfelelő szerkezetű **proteinként szintetizálódik-e**. A kifejeződés feltétele a gazdasejt számára felismerhető **promoter** jelenléte a génben, amit sok esetben már a megfelelően megszerkesztett vektor is tartalmaz. Ezek az ún. **expressziós vektorok**, amelyek a gazdasejthez igazodva tartalmazzák a kifejeződést biztosító DNS-szekvenciákat is. Megfelelő transzkripció és transláció start és terminátor szekvenciákkal, valamint az idegen gén beépülését biztosító restrikciós hasítóhellyel rendelkeznek.

A nagy mennyiségben termelt idegen fehérje azonban megterhelheti a gazdasejtet, amely akár bele is pusztulhat ebbe, vagy pedig proteázai lassan lebontják, megemésztik az értékes anyagot. Csökkenteni lehet ennek mértékét, ha a klónozás során a fehérje kiválasztását, transzportját biztosító DNS-szakaszt, ún. **szignál szekvenciát** kapcsolnak a génhez, ami egyben kényelmesebbé is teszi a termelt fehérje kinyerését.

A túltermelt fehérje sokszor oldhatatlan **zárványok** formájában halmozódik fel a sejtekben, ami a protein nem megfelelő térszerkezetének következménye. Megoldást jelenthet az, ha a fehérje ún. **fúziós fehérjeként** termelődik, amelyből tisztítás után általában proteázzal hasítják ki az aktív fehérjét. A fúziós fehérjét kódoló gént sok esetben a **β -galaktozidáz** génekkel a klónozott génnel történő összeépítésével állítják elő, amely tartalmazza a gazdasejt számára szükséges expressziós szekvenciákat is.

Amennyiben a klónozás célja minél több, jó aktivitású fehérje előállítása, a klónozó gazda kiválasztását az is befolyásolja, hogy a riboszómákon szintetizált fehérje ugyanolyan további szerkezeti változásokon (ún. poszttranszlációs módosulásokon) menjen keresztül az új gazdában, mint az eredeti sejtben. Főként az emlős fehérjék aktiválásához szükségesek ezek a szerkezeti módosulások, például szénhidrát oldalláncok hozzákapcsolódása a molekulához (glikoziláció).

Ma már több gén esetében megvalósították, hogy a gén expresszióját változtatni lehessen a transzkripció szabályozásán keresztül is. Ezt a megfelelő jelre ki- vagy

bekapcsoló promoterek teszik lehetővé, amelyek akár környezeti hatásokra (hőmérséklet, fény-, UV-sugárzás), akár egy metabolit jelenlétére reagálva aktiválódnak, lassulnak vagy kikapcsolnak, biztosítva ezáltal a géntermék szabályozott előállítását.

10.1.9. *In vitro* és célzott mutagenézis

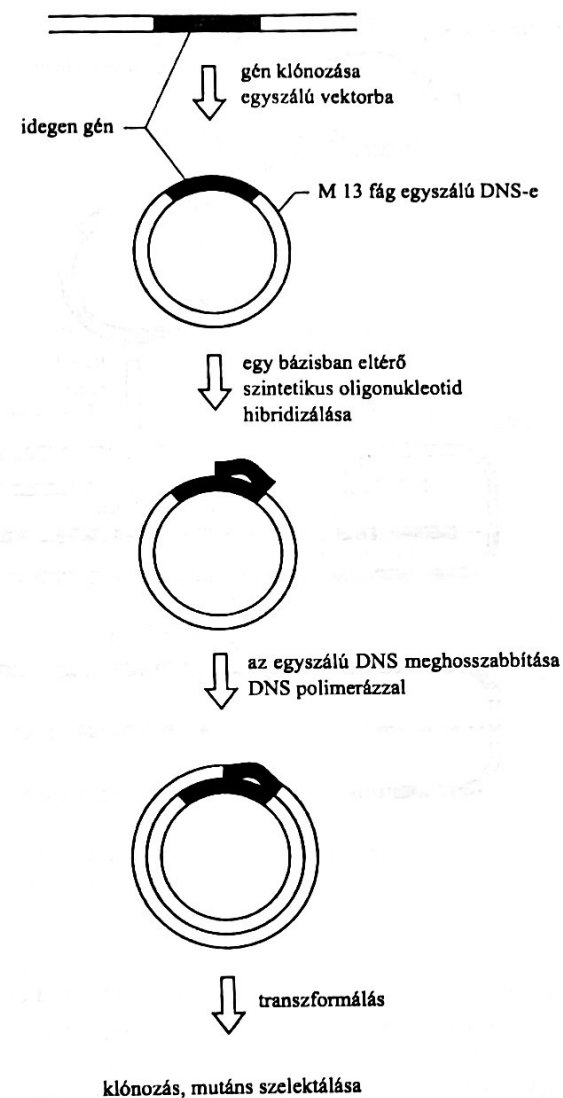
A rekombináns DNS-technika új lehetőséget nyújtott az előre megtervezhető, célzott mutagenézisére is. Ehhez olyan oligonukleotidot szintetizálnak, amely a kívánt mutációt (pl. báziscserét) hordozza, majd ezt hibridizálják a jó gént hordozó, egyszálúsított DNS-vektorral. A szintén egyszálúsított mutáns DNS-nek a helyes bázisokat tartalmazó részei hibridizálnak a génnel, majd a hibridizált szakasz oligonukleotid primerként működve, a hozzáadott DNS-polimeráz hatására kiegészül a hiányzó vektorszekvenciákkal (10.4. ábra). A kapott, mutáns gént tartalmazó vektort gazdasajtba transzformálják, amely így a mutációt hordozó, módosított proteint fogja termelni.

Célzott mutagenézis megvalósítható a jó gén megszakításával is, amit idegen szekvenciának a génbe történő beépítésével (inzerciójával) érnek el. Az idegen szekvencia általában szelekciót biztosító (pl. antibiotikum-rezisztencia) gént is tartalmaz, így a mutációt hordozó klón könnyen szelektálható. A megszakított gént tartalmazó vektort a gazdasajtba transzformálják, amelynek a helyes génje homológ rekombináció útján kicserélődik a megszakított (mutáns) génnel (10.5. ábra).

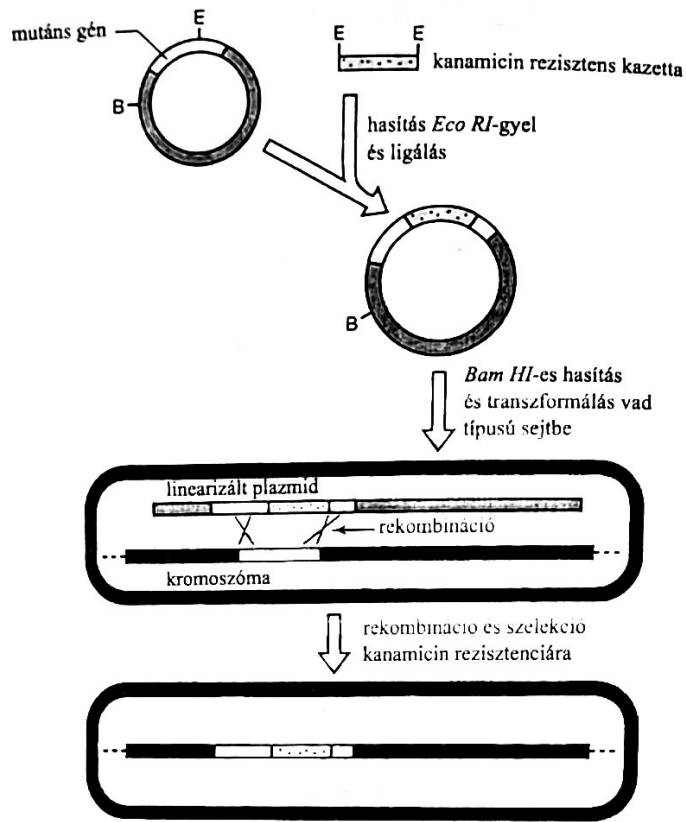
10.1.10. A fehérje szerkezetének megváltoztatása a kódoló gén célzott mutagenézisével: fehérjemérnökség (protein engineering)

A rekombináns DNS-technika legdinamikusabban fejlődő alkalmazási területe annak vizsgálata, hogy a gének szerkezetének kismértékű, de előre megtervezett, célzott megváltoztatása (mutagenézise) milyen szerkezeti változásokat okoz a termelő fehérjében, ez pedig hogyan befolyásolja annak aktivitását, stabilitását. Természetesen ilyen mutációval azt is elérhetjük (ez a könnyebb), hogy a termelt fehérje inaktív legyen, azaz a gént kiüssük. A mutáció következtében észlelt tulajdonság (fenotípus) -változásból arra is következtetni lehet, hogy mi a szerepe a génnek az élőlény életfolyamataiban. Azaz a kérdést fordítva tesszük fel, mint a klasszikus genetikában szokás, nevezetesen nem a mutáció következtében megváltozott tulajdonsághoz keressük meg és azonosítjuk a gént, hanem fordítva, először mutáltatjuk a kiválasztott gént, majd megvizsgáljuk, hogy ez milyen fenotípusos változással jár a sejtben. Találónan el is nevezték ezt az analízist **fordított genetikának**.

A **fehérjemérnökség** távlati célja, hogy olyan új fehérjemolekulákat állítsanak elő, amelyek aktivitása megnő vagy a környezeti hatásoknak jobban ellenállnak (pl. nagyobb és szélesebb szubsztrátkötő-képesség, megnövelt reakciósebesség, hő- és



10.4. ábra: Helyspecifikus mutagenézis szintetikus oligonukleotid fragmentum beépítésével



10.5. ábra: Génmegszakítás inzerációs mutagenézis segítségével
(E: Eco RI hasítóhely, B: Bam HI hasítóhely)

pH-tűrés, gátlóanyagokkal szembeni rezisztencia stb.). Ennek eléréséhez azonban még sok olyan új ismeretre van szükség, ami a fehérjéknél a molekuláris szerkezet és funkció összefüggést világítja meg, amihez a célzott mutagenézissel módosított fehérjemolekulák kutatása soha nem látott távlatokat nyitott meg. A 10.2. táblázatban néhány példát mutatunk be a fehérjemérnökség gyakorlati alkalmazására.

A módosított tulajdonság	Eljárás
Glükóz izomeráz hőstabilitásának növelése	a 253-as argininnek lizinre való kicserélése
Biopesticid hatás kifejtése avedlését szabályozó hormon módosításával	a hormon módosítása a LacZ gén inzerációjával
α -antitripszin oxidációval szembeni rezisztenciájának növelése	metioninnak valinra való kicserélése
a hirudin hatékonyságának növelése	a 47-es aszparaginnak lizinre vagy argininre való kicserélése

10.2. táblázat: Fehérjemérnökség útján módosított proteinek

10.2. A génsebészet gyakorlati alkalmazása

A rekombináns DNS-technika alkalmazása már számos területen olyan új gyakorlati eredményeket hozott, amelyek új lehetőségeket nyitottak a humán és állati gyógyászatban, gyógyszeriparban és egyéb fermentációs iparokban, valamint a mezőgazdaságban és élelmiszeriparban is. Ezek közül mutatunk be néhányat példaként.

A legfontosabb eredmények a **gyógyászatban alkalmazható humán fehérjéknek** génklónozással, fermentációs úton történő előállításával születtek. Néhány gyógyászati fehérjét közvetlenül szövetekből vontak ki, számos ilyen fehérjét állítottak elő azonban már korábban is szövettenyészetekben. Ezen fehérjék génjeit mikroorganizmusokban klónozták, jóval olcsóbb és nagyobb mennyiségű fehérje előállítására nyílt lehetőség, de olyan fehérjéket is elő tudnak így állítani, amelyek korábban gyógyászati célra nem voltak elérhetők. Kezdetben elsősorban *Escherichia coli* volt a klónozó gazda, amelyben azonban a fehérjék poszttranszlációs módosulása (pl. glikoziláció) nem ment végbe, ezért a termelt fehérje inaktív lett. Ezt a hátrányt új klónozó gazdák kifejlesztésével sikerült kiküszöbölni. Ezek közé tartoznak az élesztőgombák, fonalgombák, sőt újabban nemcsak mikroorganizmusokkal, hanem tejlő állatokkal is állítanak elő jó aktivitású heterológ humán fehérjéket. A 10.3. táblázatban példaként bemutatunk néhány, rekombináns DNS-technikával előállított gyógyászati fehérjét.

Az első sikeresen előállított és kereskedelmi forgalomba került humán fehérje az **inzulin** volt, amelyet *E. coli*-val termeltettek meg. A klónozott inzulin gént tartalmazó rekombináns DNS alapján először egy fúziós fehérje szintetizálódott, amelyről ezt követően két lépésben lehasították az aktív inzulint. Ez a fehérje szerkezetét és minden tulajdonságát tekintve megegyezik az emberi szervezet által termelt inzulinnal és jóval olcsóbb, mint a sertés hasnyálmirigyből kivont gyógyászati inzulin.

Fehérje	Funkció	Rekombináns gazda
epidermis növekedési faktor	sebek gyógyulása	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
folliculus stimuláló hormon	meddőség gyógyítása	
inzulin	diabetes gyógyítása	<i>E. coli</i> és <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
relaxin	szüléskönnyítő	<i>E. coli</i>
somatotropin	törpeség gyógyítása	<i>E. coli</i>
somatostatin	acromegalia gyógyítása	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
calcitonin	csontgyengeség gyógyítása	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
erythropoetin	vérzegénység gyógyítása	
VIII véralvadási faktor	hemophilia (vérzékenység) gyógyítása	<i>E. coli</i>
plazminogén aktivátor	véralvadásgátló	<i>E. coli</i>
interleukin-2	rákellenes hatás	<i>E. coli</i>
tumor nekrosis faktor	rák gyógyítása	
α -interferon	vírus- és rák- (leukémia-) ellenes hatás	<i>E. coli</i>
β -interferon	sclerosis multiplex gyógyítása, AIDS-ellenes hatás	<i>E. coli</i>
γ -interferon	rákellenes hatás, reuma gyógyítása	<i>E. coli</i>
lizozim	gyulladásgátló	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
α -amiláz	keményítő lebontása	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>

10.3. táblázat: Gyógyászati célra előállított heterológ humán fehérjék

Vírusellenes oltóanyagok előállításában több új lehetőséget is teremtett a rekombináns DNS-technika. A kórokozó vírusok köpenyfehérje génjeinek klónozásával olyan tiszta immunizáló oltóanyagokat állítottak elő, amelyek kiemelkedően magas immunogén hatást mutattak, ugyanakkor megszüntették a veszélyét az oltóanyaggal történő véletlenszerű megfertőzésnek. Ezek az ún. **alegységvakcinák**, amelyek azonban *E. coli*-val megtermelve sokszor nem voltak aktívak, általában a glikoziláció elmaradása miatt. Ezt számos esetben megoldották *Saccharomyces*

cerevisiae-ben történő génlónozással, de sokszor más élesztőfajban, pl. *Kluyveromyces lactis*-ban klónozva tudtak csak aktív fehérjét előállítani.

A **rekombináns vakcina** olyan vírust tartalmaz, amelynek DNS-éből a patogenitásért felelős gén(ek)e)t kivágták, a vírus maga azonban fertőzőképes maradt és a termelt vakcina a patogén vírushoz hasonló immunválaszt váltott ki.

A rekombináns DNS útján előállított oltóanyagok alkalmazásának számos **előnye** van a hagyományos vakcinálással szemben. Egyrészt jóval biztonságosabbak, mint a gyengített vagy elölt vírust tartalmazó oltóanyagok, másrészt lényegesen nagyobb dózisban beadhatók anélkül, hogy mellékhatástól kellene tartani. További előnyük, hogy az oltóanyag jóval rövidebb idő alatt előállítható mint a hagyományos úton, ami például az influenzavírus elleni vakcinálás esetében – ami a vírus változékonysága miatt rendszeresen új oltóanyag előállítását teszi szükségessé – hatékonyabb védekezést biztosít egy járvány megfékezésekor. Az sem utolsó szempont, hogy a rekombináns vakcina jóval olcsóbb mint a hagyományos.

A génebésezet a **fermentációs iparok** területén elsősorban a rekombináns DNS által kódolt fehérjéknek mikroorganizmusokkal történő termeltesében jelentette a legnagyobb előrelépést. Ugyanakkor a korábbi termékek (pl. antibiotikumok, enzimek, aminosavak) előállításában a molekuláris biológia nyújtotta törzsjavítási módszerek alkalmazása hozott fejlődést. Az antibiotikumok esetében a metabolikus utakban részt vevő enzimek vagy szabályozó fehérjék génjeinek módosításával új típusú antibiotikumokat állítanak elő, vagy pedig nagyobb termelékenységet biztosítanak.

A **növényi biotechnológiában** számos területen nyert alkalmazást a rekombináns DNS-technika, melynek eredményeként gyomirtószereknek, növényvédőszernek, vírus- és egyéb mikrobia betegségeknek ellenálló növényeket nemesítettek. Ugyanakkor olyan tulajdonságokat is bevittek növényekbe, aminek eredményeként a táplálkozási érték nőtt (pl. módosított olajat tartalmazó repcemag, β -karotint tartalmazó rizsszem) vagy hosszabb tárolhatósági időt eredményező génmódosítás a lassan puhuló paradicsom esetében. Az egyik legelső, gyakorlatba is bevezetett transzgenikus növény a *Bacillus thuringiensis* inszekticid (rovarölő) Bt-toxinját termelő gyapot. A szúnyogok ellen hatásos Bt-toxint klónozott mikroorganizmussal is előállítják fermentációval, amelyet hatékonyan alkalmaznak a szúnyogok elleni biológiai védekezésben. Növénypatogén vírusok köpenyfehérje génjeinek klónozásával az adott vírussal szemben ellenálló növényeket, gyümölcsfákat állítottak elő. Néhány esetben a növényeket hatékonyan alkalmazzák heterológ fehérjék termeltesére is, amelyek a gyógyászatban kerülnek felhasználásra. Ilyenek például a különböző ellenanyagok, amelyek a rák és a vírusok elleni küzdelemben ígéretes lehetőséget jelentenek.

Állatokban történő génlónozással **transzgenikus állatokat** hoznak létre, amelyeknek egyrészt a gyógyászati kutatásban, másrészt heterológ fehérjék termelésében van kiemelt jelentőségük vagy a különböző betegségekkel szemben fokozottabban ellenállnak.

A transzgénikus állatok kutatásával közelebb jutnak az állati sejtekben érvényesülő genetikai szabályozás molekuláris alapjaihoz, a sejtosztódást, egyedfejlődést irányító gének működésnek megismeréséhez. A rekombináns DNS-technika alkalmazásával kísérleti szinten már létrehoztak olyan transzgénikus állatokat, amelyeknél a húst alkotó izomszövet és a zsírszövet arányát genetikailag szabályozták. A különböző hormonok termelésének genetikai szabályozásával ugyancsak elérték a hozamszint vagy a tejelválasztás szabályozását. Ennek gyakorlati alkalmazásához azonban még számos, elsősorban környezeti és élelmiszerbiztonsági, valamint etikai kérdést kell megoldani.

Gyakorlati megvalósításra került azonban már számos humán gyógyászati proteinek állati szervezetekkel történő megtermeltetése, mivel az állati sejtek poszttranszlációs módosítása áll legközelebb az emberi sejtekéhez. Már említettük azokat a tejelő transzgénikus állatokat, amelyek esetében a heterológ fehérje a tejbe kerül kiválasztásra, ahonnan egyszerűen és tisztán lehet kinyerni anélkül, hogy az állatot meg kellene ölni. Ilyenek például a kecskével termeltetett, a tüdőgyógyászatban alkalmazott α -1-antitripszin és a vérrögök feloldásában hatékony plazminogén aktivátor.

BIRÓ SÁNDOR

11. MIKROORGANIZMUSOK GAZDASÁGI JELENTŐSÉGE



Bár a mikroorganizmusok szerepének felismerése és tudatos alkalmazásuk kezdete a múlt század közepére tehető, gyakorlati tapasztalaton alapuló felhasználásuk olyan tradicionális mikrobiális eljárásokban mint a bor- és sörgyártás, ecet-, sajt- és vajkészítés, savanyítási eljárások stb. több évezredes múltra tekint vissza. A mikrobiológia tudományának fejlődése ezen hagyományos eljárások tökéletesítése mellett a mikroorganizmusok felhasználásának újabb és újabb lehetőségeit tárta fel. Az alábbiakban néhány ilyen eljárást foglalunk össze.

11.1. Élesztőket hasznosító hagyományos mikrobiológiai eljárások

A természetben előforduló nagyszámú élesztőfaj közül a *Saccharomyces cerevisiae* törzsei játsszák a legfontosabb szerepet ezekben a tradicionális eljárásokban.

11.1.1. Borászat

A bor készítése során az érett szőlőszemekből kiperéselt lében, a mustban lévő cukrokat (glükóz és fruktóz) erjesztjük CO_2 felszabadulása mellett alkohollá (l. alkoholos erjedés). Az alkoholos fermentáció végbemehet a szőlőszemeken jelenlévő élesztőfajok hatására. Ilyenkor a fermentáció előrehaladása során egyre jobb alkohol- és szén-dioxid-tűrésű fajok kerülnek túlsúlyba, míg végül a *Saccharomyces cerevisiae* válik uralkodóvá. Nagyüzemi körülmények között a természetes élesztőpopuláció SO_2 -dal való előlése után a musthoz adott ún. fajélesztőkkel végzik az erjesztést. A fajélesztők olyan, az egyes borvidékeken izolált és tiszta tenyészetben fenntartott *Saccharomyces cerevisiae* törzsek, melyek alkohol-, cukor-, kén-dioxid- és hidegtűrése kiváló, aromatermelésük pedig az egyes régiókra jellemző.

Az erjedés 1–2 hétig tart, melynek során a cukortartalom nagy része alkohollá és szén-dioxiddá alakul, kialakulnak a bor karakterét meghatározó szín-, íz- és zamatanyagok. Ezek összetétele a felhasznált szőlő- és élesztőfajoktól függ. A főerjedés után a bor fokozatosan tisztul, s kiülepszik belőle a seprő, mely az elpusztult élesztősejteket, kicsapódott szerves anyagokat, s a mustban lévő nem oldott részecskéket tartalmazza. Erről a bort lefejtik, s további derítési, szűrési, s egyéb eljárások során alakítják ki végső ízét, aromáját. Ezek a folyamatok hosszú időt igényelnek.

Elsősorban a nagyobb savtartalmú vörös borok az első év során egy másodlagos, spontán fermentáción mennek keresztül, melynek során az almasav egy része tejsavvá és szén-dioxiddá alakul, s ezzel csökken a bor savassága. Ezt az erjesztést különböző tejsavbaktériumok (*Pediococcus*, *Leuconostoc* és *Lactobacillus* fajok) végzik.

Amennyiben az így készült bort pezsgőgyártásra használják, a bort mikróba-mentesítik, alkohol- és cukortartalmát beállítják, s hidegtűrő fajélesztővel zárt palackban vagy nagyméretű erjesztőtankban újraerjesztik. Ennek során az alkoholtartalom kismértékben, a szén-dioxid-tartalom viszont jelentősen megnő. Forgalomba természetesen ez is a seprő eltávolítása után kerül.

Franciaország és Németország egyes borvidékein, valamint a Tokajhegyalján egyes édesborok készítése eltér a fentiekben leírttól. Itt megvárják a szőlőszemek aszúsodását, melynek során a szőlőszemeken meglepedett *Botrytis cinerea* gomba egyrészt csökkenti a szőlőszemek vizeitartalmát, másrészt lebontja az almasav egy részét és izanyagokat is termel. Ezáltal a szőlőből nagyon édes must nyerhető, melynek erjesztését olyan élesztőkkel végzik, melyek a glükózt gyorsan alkohollá alakítják, míg a fruktóz egy része visszamarad, s ezáltal egy édes, desszert típusú bor jön létre.

Bár a borok magas alkoholtartalma és alacsony pH-ja a legtöbb mikroorganizmus számára kedvezőtlen, mégis bizonyos mikroorganizmusok a bor minőségének romlását vagy teljes tönkretételét okozhatják. Ilyenek a különböző ecetsav-baktériumok és a felszínen filmet képző élesztők, melyek a borok alkoholtartalmát ecetsavvá alakítják, illetve a különböző tejsavbaktériumok, melyek a bor maradék cukortartalmát felhasználva anaerob módon képesek növekedni, s a boroknak „egérizt” kölcsönöznek.

A borok desztillálásával készülnek a különböző brandy-k.

Amennyiben a borok alkoholtartalmát *Acetobacter* vagy *Gluconobacter* fajokkal kontrollált körülmények között ecetsavvá oxidáljuk, borecetet kapunk.

11.1.2. Sörgyártás

A sörgyártás alapanyagául különböző növényi magvak (Európában hagyományosan árpa, Amerikában kukorica és Ázsiában rizs) szolgálnak. Ezek egyike sem tartalmaz fermentálható cukrot. Fő szénhidráttartalmuk a keményítő, melynek hidrolízisét az egyes alapanyagoknál eltérő módon oldották meg. Ezt az árpa esetén a csíráztatott árpában keletkező α - és β -amilázokkal végzik el. Ehhez az árpát először megnedvesítik és csíráztatják, majd megszáritják. Ez a folyamat a malátázás, melynek során a keményítő változatlan formában marad. Ezután a malátát őrlik, és vízzel összekeverik. Ekkor a csíráztatás során keletkező amilázok és proteázok hidrolizálják a keményítőt, illetve a fehérjéket. Amikor a hidrolízis kellő mértékben előrehaladt (a keményítőtől kellő mennyiségű, ún. maltodextrinek keletkeztek), az elegyet felfőzik, szűrik, majd komlót adnak hozzá, s azzal ismét felfőzik a jobb extrakció és a cukrok karamellizálásának elősegítése céljából. Az így nyert sörlét ezután sörélesztővel beoltva fermentálják. Az alkalmazott speciális sörélesztők a *Saccharomyces cerevisiae* különböző törzsei, melyeket hosszú évek nemesítő munkájával állítottak elő az egyes sörfőzdékben, s amelyeket külön fajként tartanak számon (pl. *Saccharomyces carlsbergensis*).

A sörélesztők alapvetően két csoportba oszthatók. A felső erjesztők fermentációja gyors, szén-dioxid-képződése erőteljes, magasabb hőmérsékletet (20 °C) igényelnek és magasabb alkoholtartalmú sörök (pl. az angol „ale”) készíthetők velük. Nevük abból ered, hogy az erőteljes szén-dioxid-képződés során a sejtek a felszínre sodródnak. Ezzel szemben az ún. alsó erjesztésű törzsek lassabban fermentálnak, alacsonyabb hőmérsékletet (12 °C) igényelnek, s alacsonyabb alkoholtartalmú sörök készíthetők velük. Ezek a törzsek a fermentáció során az edény aljára süllyednek.

A sörgyártás utolsó fázisa az ún. ászokolás, mely egy alacsony hőmérsékleten (0–2 °C), zárt tartályban történő utóérlelés. Ennek során alakul ki a sör jellegzetes íze, s telítődik szén-dioxiddal.

A borhoz hasonlóan a tejsav- és ecetsav-baktériumok a sörök minőségét is ronthatják. Ezek ellen az alkalmazott sörélesztők tisztaságával és pasztörözéssel védekezhetünk. Manapság már a sörök egy részét szűrővel sterilizálják, így kerülve el a pasztörözés okozta enyhe zamatváltozást.

11.1.3. Kenyérgyártás

A kenyér a legősibb emberi táplálék. Ezt támasztják alá a kenyérfőzésről készült ókori egyiptomi képek, s a British Múzeumban látható, időszámítás előtt 2100-ból származó kenyerek. A kenyérgyártás során az élesztő szerepe részben a tészta kelesztése és dagasztóságának biztosítása, részben pedig íz- és illatanyagok termelése. A kelesztés során a benedvesített lisztet élesztővel keverik, s meleg helyen állni hagyják. Ilyenkor a lisztben lévő enzimek (elsősorban β -amiláz) hatására maltóz keletkezik. Mivel itt az élesztő metabolizmusa elsősorban aerob, ilyenkor a szén-dioxid mellett csak kevés alkohol keletkezik. A szén-dioxid-buborékok a tésztában kis buborékok formájában visszamaradva a kenyér laza textúrájának kialakulását segítik. Az élesztő metabolizmusa, s ezzel a kelesztés, az alkalmazott élesztő inokulum nagyságával, a tészta cukortartalmával, a kelesztési hőmérséklettel, és a só koncentrációjával befolyásolható. Hatással van továbbá a kenyér textúrájára és ízére a dagasztás, amikor is további levegőt kevernek a tésztába. A kenyér sütése során a tésztában levő gázbuborékok térfogata növekszik, s a kenyér végső állaga kialakul, ugyanakkor az élesztő sejtek elpusztulnak, s a keletkezett kevés alkohol is elillan.

Az élesztő és más mikroorganizmusok, pl. a különböző rozskenyerek készítésekor az indító kultúrában lévő tejsavbaktériumok (*Lactobacillus plantarum*, *L. brevis*, *L. bulgaricum*, *Leuconostoc mesenteroides*, stb.) a szén-dioxid-termelés mellett egyéb szerves íz- és aromaanyagokat is termelnek, így a kenyérfőzésben nélkülözhetetlenek. Ezért nem helyettesíthetők pl. a múlt században von Liebig német tudós által felfedezett sütőporral, melyből ugyancsak szén-dioxid szabadul fel.

11.2. Ecetsav-baktériumokat hasznosító hagyományos mikrobiológiai eljárások

11.2.1. Ecetgyártás

Ha alkoholtartalmú folyadékot levegőn állni hagyunk, azok alkoholtartalma az aerob ecetsav-baktériumok hatására ecetsavvá alakul. Ez az alapja az ecetgyártásnak.

A legjobb minőségű borecetét még ma is a hagyományos, orleans-i módszerrel állítják elő. Az eljárás során a bort nyitott hordóban levegőn állni hagyják. A bor felületén az aerob ecetsav-baktériumok hártát képezve igen lassan alakítják át az alkoholt ecetsavvá.

Ugyancsak évszázados múltra tekint vissza az az eljárás, melynek során híg desztillált alkoholt vagy almabort alakítanak át ecetté egy faforgáccsal lazán megtöltött tartályon, ellenáramú levegőztetés közben való átsurgatással. Az ecetsav-baktériumok a faforgács nagy felületén megtelepedve viszonylag gyors átalakulást biztosítanak. 10% alkoholtartalmú oldatok 4–5 nap alatt átalakíthatók.

Ma a forgalomba kerülő ecet döntő többségét modern, keverős, levegőztetett tartályfermentorokban állítják elő.

11.2.2. Egyéb ecetsav-baktériumok által előállított termékek

Ugyancsak ecetsav-baktériumok felhasználásával állítanak elő, glükóz oxidálásával glükonsavat, valamint szorbitolból szorbózt, melyeket a gyógyszeripar használ nagy mennyiségben.

11.3. Tejsavbaktériumok alkalmazása

A tejsavbaktériumok növekedésük során nagy mennyiségű tejsavat termelnek, mely a közeg pH-ját oly mértékben lecsökkenti, hogy az a legtöbb mikroorganizmus növekedését gátolja. Ily módon a tejsavbaktériumok élelmiszerek tartósítására használhatók. Emellett a tartósított élelmiszerek élvezeti értékét különböző íz- és zamatanyagok termelésével is fokozzák.

11.3.1. Tejtermékek (sajt, kefir, joghurt) előállítása

A tejjárban, lévén a tej kiváló táptalaj a baktériumok számára, pasztörözött tejet használnak, melyet tejsavbaktériumok szintenyészetével oltanak be.

A sajt készítés az egyik legrégebbi élelmiszeripari eljárás. A világon kb. 2000 különböző, mintegy 20 típusba sorolható sajtot állítanak elő. Az egyik gyakori besorolási jelleg a sajtok keménysége, mely alapján lágy (krémsajt, Brie, Camembert, Mozzarella), félkemény (Limburger, Roquefort), kemény (Cheddar, Edami) és nagyon kemény (Parmesan) sajtokat különböztetünk meg. Minden sajt készítése a tejsavbaktériumokkal történő erjesztésével kezdődik. Az erjesztésre használt tenyészetek azonban a sajtok jellegétől függően eltérőek, s általában nem egyetlen *Streptococcus* vagy *Lactobacillus* törzset tartalmaznak. Az erjesztés során a savtermelés eredményeként a tejfehérjék kicsapódnak, melyet renninnel (korábban borjúgyomrából izolált enzim, melyet ma már génmanipulált mikroorganizmusokkal állítanak elő) is elősegíthetnek. A tej megalvadása után az aludttejet hőkezélik, a savót eltávolítják, szükség szerint sózzák és a sajtot érlelik. Az érlelés során sajttípusonként sokféle folyamat játszódik le, s ekkor alakul ki a sajt végső formája. A fehérje peptidekre, sőt aminosavakra is lebomolhat. Az aminosavak további bomlása ammóniát eredményez. A lágy sajtokban a fehérje teljes mennyisége aminosavakra bomolhat. A kemény sajtokban viszont a fehérjék lebomlása gátolt, s ez az arány mindössze 25–30%. Az érlelés során a sajtokhoz további mikroorganizmusokat is adhatnak. Így pl. a Roquefort sajt kék színe és egyedülálló íze a *Penicillium roqueforti* penészgombával való beoltás eredménye. A Camembert sajtok íze és felületi megjelenése a *Penicillium camemberti* penészgombával való felületi inokulálás eredménye. Egyes sajtokban a nagyméretű lyukakat a propionsav baktériumok fermentációs tevékenysége során képződő szén-dioxid alakítja ki, de ezek a baktériumok egyben az ízkompozíció kialakításában is szerepet játszanak.

A kefir készítése során a tejet „kefirgombákkal” oltják be, melyben tejsavbaktériumok (*Streptococcus lactis*, *S. cremoris*, *Lactobacillus casei*, *L. caucasicus*), valamint élesztőgombák tejsavas, illetve alkoholos erjedést okoznak. A fermentáció végére a kefir 1–2% tejsavat és 0,2–0,5% alkoholt tartalmaz.

Joghurt gyártása során a tejet *Streptococcus thermophilus* és *Lactobacillus bulgaricus* tenyészetek 1:1 arányú elegyével oltják be, melyek közül a *Streptococcus* a savtermelésért, a *Lactobacillus* pedig a zamatanyagok termeléséért felelős. A fermentáció végén a friss joghurt 1 grammja kb. 10^9 baktériumsejtet tartalmaz. A joghurtban a tej laktóztartalmának egy része tejsavvá alakul, fehérje, tartalma pedig az alacsony pH-n kicsapódik, ami tápértékét nem csökkenti, ugyanakkor emészthetőségét javítja.

11.3.2. Savanyúságok készítése és zöldnövények silózsása

A savanyúságok (uborka, káposzta stb.) előállítása és tartósítása a növényeken található tejsavbaktériumok spontán tejsavas erjesztésével történik, szubsztrátként

a növények szénhidrátjai szolgálnak. A tejsavbaktériumok elszaporodását szózással és anaerob körülményekkel is elősegítik. Az erjesztés során az egyre csökkenő pH-nak megfelelően egyre savtűrőbb (és egyre több tejsavat termelő) tejsavbaktériumok növekedése kerül előtérbe. Így a kezdetben uralkodó *Streptococcus* és *Leuconostoc* fajokat *Pediococcus* és *Lactobacillus* fajok váltják fel. Ezek mellett bizonyos élesztőgombák is képesek ilyen körülmények között szaporodni. A tejsavbaktériumok elszaporodása eredményeként kialakuló alacsony pH az egyéb mikrobák szaporodását meggátolja, az egyéb íz-, illat- és zamatanyagok pedig gasztronómiai értéküket növelik. A folyamat végén a tejsavkoncentráció olyan magas, hogy még a tejsavbaktériumok szaporodását is gátolja, így a termék konzerválódott. A továbbiakban csak a tejsavat oxidáló mikrobák szaporodását kell megakadályozni, mivel ez megindíthatja a rothasztó baktériumok szaporodását, s ezzel a termék tönkremegy.

Hasonló az elve az állatok takarmányozására használatos, a zöld növényi részek tartósításával készített siló gyártásának. A tejsavas fermentáció után a siló hosszú ideig tárolható a lebomlás veszélye nélkül.

11.3.3. Húskészítmények tartósítása

Húsok és húskészítmények (sonka, kolbász, szalámi, halak) tartósítására is használatosak egyes tejsavbaktériumok, leggyakrabban *Pediococcus* és *Lactobacillus* fajok.

11.3.4. Dextrán és más poliszaharidok termelése

A tejsavbaktériumokhoz tartozó bizonyos fajok (*Streptococcus*, *Leuconostoc*) szaharózon növesztve nagy mennyiségű extracelluláris poliszaharidot, az ún. dextránt termelnek. A dextránok változó molekulatömegű (15 000–20 000 000 Dalton) poliglükózok. A molekulaméret elsősorban az alkalmazott törzs függvénye. Az óriásmolekulák kémiai keresztkötésével ún. molekulaszűrők állíthatók elő, melyeknek szűrési mérettartománya a keresztkötések gyakoriságának függvénye. Ezek a molekulaszűrők a különböző méretű molekulák egyszerű kromatográfiás elválasztását teszik lehetővé az 500–1 000 000 Dalton mérettartományban. Kereskedelmi forgalomba *Sephadex* és egyéb márkaneveken kerülnek.

A bakteriális poliszaharidok egy másik iparilag fontos képviselői a levánok. Ezek nagy molekulatömegű polifruktózok, melyeket egyes *Pseudomonas* és *Xanthomonas* fajok állítanak elő, ha szaharózon tenyésztjük őket. Kiváló gélképzésük miatt használják az élelmiszeriparban, valamint kenőanyagként.

11.4. Vajsavbaktériumokat hasznosító mikrobiológiai eljárások

11.4.1. Áztatási eljárások

Az áztatás célja bizonyos növényi anyagok kontrollált mikrobiális lebontása, hogy ezzel egyes szövetkomponensek szabadabbá váljanak. Ennek évezredek óta használatos példája a kender és len áztatása, amelynek során a cellulózból álló növényi rostokat cementáló pektin lebomlik, így a rostok szabadabbá válnak. Az eljárás során a növényi szárazakat vízbe merítik, mellyel elkezdődik a mikrobiális lebontás. Kezdetben aerob mikroorganizmusok szaporodnak, melyek felhasználják az oxigént, mintegy előkészítve ezzel a terepet az anaerob vajsavbaktériumok számára. Ezek igen gyorsan lebontják a pektint, szabadabbá téve ezzel a növényi rostokat. Igen fontos az áztatás időtartama, mert ha az áztatás túlságosan sokáig tart, a cellulózbontó baktériumok is elszaporodnak, és tönkreteszik a rostokat. Hasonló áztatási eljárást használnak a burgonyakeményítő gyártásakor. Ekkor a pektinbe ágyazott keményítő-tartalmú sejteket teszik így szabaddá.

11.4.2. Aceton-butanol fermentáció

Egyes *Clostridium* fajok szénhidrátból különböző savakat, alkoholokat, szén-dioxidot és hidrogént termelnek. A képződött savak (ecetsav, vajsav) tovább redukálódhatnak alkohollá. A *Clostridium acetobutylicum* használata aceton és butanol előállítására az I. világháború során terjedt el, mivel rendkívül megnőtt a robbanószer-iparban az igény az aceton iránt. (Az eljárást Chaim Weismann biokémikus dolgozta ki, akinek a brit kormány az általa választott bármely kitüntetését felajánlotta. Ő azonban azt kérte, hogy inkább támogassák egy zsidó állam létrehozását Palesztina területén. Miután a II. világháború során jelentős része volt Amerikában a szintetikus gumigyártás kidolgozásában is, a háború után ő lett a brit-amerikai segítséggel létrejött Izrael állam első elnöke.) Bár a háború után ez a helyzet megváltozott, az ipari eljárás még sokáig fennmaradt, mivel a másik termék, a butanol az autógyártásban mint a gyorsan száradó nitrocellulóz festékek oldószere került felhasználásra. Az eljárás mellékterméke, a riboflavin az eljárás gazdaságosságát szintén fokozta. Később ez az ipar gyakorlatilag megszűnt, s ezeket a termékeket kőolajból állították elő. Az olajárrobbanás aztán újra gazdaságossá tette a mikrobiológiai eljárást. Érdekességként megemlítjük, hogy mivel a fermentáció tejsavbaktériumokkal való fertőzése a lesavanyodás miatt a gátolja a *Clostridium acetobutylicum* növekedését,

s a *Clostridiumok* fágfertőzésre is igen érzékenyek, ezek voltak az első olyan ipari fermentációk, ahol ipari méretekben is fontos volt a tiszta kulturák használata. Ez később az antibiotikumok ipari termeltetése során még inkább előtérbe került.

11.5. Mikrobák mint fehérje- és aminosavforrások

11.5.1. Egysejtfehérje-előállítás

Első hallásra a baktériumok, gombák, algák vagy élesztő mint élelmiszer különösnek, netán rémisztőnek hangzik. Makroszkópikus rokonaikat azonban szívesen (csiperke, champion gombák), sőt egyeseket mint ritka ínycségeket (szarvasgomba) fogyasztjuk. Maga az elképzelés nem új, hiszen a II. világháború során Németországban az alutápláltság csökkentésére mikroszkópikus gombát és élesztőt mint táplálékkiegészítőt már használtak. Manapság azonban a legtöbb országban ezek nem emberi, hanem állati táplálékként kerülnek alkalmazásra. Előnyük a nagyon gyors szaporodás, magas fehérjetartalmuk és alacsony költségigényük, mivel különböző ipari hulladékokon (pl. cukorgyári melasz) is jól szaporodnak. Fehérjeforrásként (halliszt, szója stb. helyettesítésére) kerülnek alkalmazásra. A mikroorganizmusok fehérjeelőállításban való hatékonyságát szemlélteti, hogy míg egy 500 kg súlyú szarvasmarha egy nap 0,4 kg fehérjét állít elő, addig 500 kg élesztő optimális növekedési feltételek esetén napi 50 tonna fehérjét képes előállítani. Elsősorban élesztők és metilotroph baktériumok kerülnek ilyen célra felhasználásra, s termékük általános elnevezése az ún. „egysejt-fehérje” (single-cell protein, SCP). Angliában *Methylophilus methylotrophus* baktérium termelésével az ún. *prutént*, *Fusarium graminearum* termelésével pedig az ún. *mycoproteint* állítják elő évente több ezer tonna mennyiségben állatok etetésére. A termékek texturája azonban alkalmassá teszi őket emberi táplálkozásban húspótlóként való felhasználásra is.

Természetgyógyász-üzletekben ugyancsak kapható egy sötétzöld színű por, mely a spirális Cyanobaktérium *Spirulina* fajokból készül. Ez egyes tavakon igen nagy mennyiségben nő, s Afrika és Mexikó egyes körzeteiben a zöld növények alternatívája. A *Spirulina* nem mérgező, magas fehérjetartalmú, kellemes ízű táplálék, amely a népesség növekedésével fontos szerephez juthat.

11.5.2. Aminosavak előállítása

Egyes növények, bár mennyiségileg az emberi táplálkozásra elegendő fehérjét tartalmaznak, emberi táplálkozásra nem alkalmasak, mivel bizonyos, az ember számára esszenciális aminosavakban szegények. Így pl. a búza lizinben, a rizs lizinben és treoninban, a kukorica lizinben és triptofánban, a bab és borsó metioninban szegény fehérjéket tartalmaz. Amennyiben ezeket a növényeket kizárólagos fehérjeforrásként fogyasztjuk, a hiányzó aminosavakkal a táplálékot ki kell egészíteni. Ezen aminosavak mikrobiális termeltetése így rendkívül fontossá vált. Az aminosavak bioszintézise általában jól regulált, feed-back kontrol alatt áll. Aminosav-túltermelésre olyan természetes vagy mesterségesen előállított mutáns törzseket használnak, amelyek valamely aminosav bioszintézisének szabályozásában defektsek, így az illető aminosavat a tápoldatban kiválasztják.

11.6. Egyéb mikrobákat hasznosító eljárások

A fenti rövid áttekintés csak a hagyományos mikrobiológiai eljárások egy részét fedi le. A mikroorganizmusok egyéb ipari felhasználására példákat találnak a jegyzet más fejezeteiben. Így a modern rekombináns DNS-technikákon alapuló eljárások a „Mikrobiális biotechnológia”, a mikroorganizmusok gyógyszeripari (antimikrobiális anyagok előállítása) felhasználása az „Antimikrobiális anyagok” fejezetekben kerülnek tárgyalásra.

AJÁNLOTT IRODALOM



- ALEXANDER, M.: Introduction to soil microbiology. Second Edition, John Wiley & Sons Inc. New York, 1977.
- ALEXOPOULOS, C.J.-MIMS, C.W.-BLACKWELL, M.: Introductory mycology. Fourth Edition, John Wiley & Sons Inc. New York, Toronto, 1996.
- ATLAS, R.M., BARTHA, R.: Microbial ecology: fundamentals and applications. Second Edition, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., Menlo Park, California, 1987.
- BARON, C.-ZAMBRYSKI, P.C.: Notes from the underground: highlights from plant-microbe interactions, TIBTECH., 13, 256-261, 1996.
- BROCK, T. D.-MADIGAN, M. T.: Biology of microorganism. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 1994.
- BROCK, T. D.-MADIGAN, M.T.-MARTINKO, J.M.-PARKER, J.: Biology of microorganisms. Eighth Edition, Prentice Hall Inter. Ltd., London, 1997.
- BROOKS, G.F.-BUTEL, J.S.-MORSE, S.A.: Jawetz, Melnick, and Adelberg's medical microbiology. 21th ed., Appleton and Lange, Stamford, Conn., 1998.
- BUDAI J.-NYERGES G.: Védőoltások. Medicina Könyvkiadó Rt., Budapest, 1997.
- CAMPBELL, P.N.-SMITH, A.D.: Biochemistry illustrated. Churchill Livingstone, Edinburgh, London, 1992.
- CANN, A.J.: Principles of molecular virology. 2nd ed., Academic Press, London, 1997.
- CONWAY, T.: The Entner-Doudoroff pathway, history, physiology and molecular biology, FEMS Microbiol. Rev. 103, 1-28, 1992.
- COOKE, R.C.-WHIPPS, J.M.: Ecophysiology of fungi. Blackwell Scientific Publications, London, 1993.
- DEÁK T.: Általános mikrobiológia (egyetemi jegyzet), Kertészeti Egyetem, Tartósítóiipari Kar, Budapest, 1977.
- DEÁK T.: Élesztőgombák a természetben és az iparban. Mezőgazdasági Szaktudás Kiadó, Budapest, 1998.
- DEÁK T.-EDELÉNYI M. (szerk.)-NOVÁK E. K.-ZSOLT J.: Borászati mikrobiológia, Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 1987.
- ELLWOOD, D.C.-HEDGER, J.N.-LATHAM, M.J.-LYNCH, J.M.-SLATER, J.H. (Eds.): Contemporary microbial ecology. Academic Press, London, New York, 1980.
- ÉRSEK T.-GÁBORJÁNYI R. (szerk.): Növénykórokozó mikroorganizmusok. ELTE Eötvös Kiadó, Budapest, 1998.
- ÉRSEK T.-HORNOK L. (szerk.): Kórokozók és a fertőzött növény. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1985.
- FERENCZY L.-ZSOLT J.: Mikrobiológia (egységes jegyzet). Tankönyvkiadó, Budapest, 1969.
- GÁBORJÁNYI R.: Bevezetés a növényvirológiába. JATEPress, Szeged, 1991.

- GERGELY L. (szerk.): Orvosi mikrobiológia. Semmelweis Kiadó, Budapest, 1999.
- GOODMAN, R.N.–KIRÁLY Z.–WOOD, K.R.: A beteg növény biokémiája. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1991.
- GOTTSCHALK, G.: Bacterial metabolism. Second Edition, Springer-Verlag, New York, Berlin, Heidelberg, 1986.
- GRANT, W.D.–LONG, P.E.: Environmental microbiology, Blackie, Glasgow, London, 1981.
- HILLIS, D. M.–MORITZ, C.–MABLE, B. K. (Eds.): Molecular systematics. 2nd ed., Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA, USA.
- HORNOK LÁSZLÓ (Szerk.): Bevezetés a mikrobiológiába. Gödöllői Agrártudományi Egyetem, 1997.
- HUDSON, H.J.: Fungal biology. Cambridge Univ. Press, Cambridge, 1992.
- JENNINGS, D.H. (Ed.): Stress tolerance of fungi. Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, Hong Kong, 1993.
- KEVEI FERENC–KUCSERA JUDIT: Mikrobiológia I., JATEPress, Szeged. 1998.
- KEVEI F.–KUCSERA J.–MANCZINGER L.–VÁGVÖLGYI CS.: Mikrobiológia II. JATEPress, Szeged, 1999.
- KEVEI, F.–KUCSERA, J.–VARGA, J.–VÁGVÖLGYI, Cs., (Szerk.): Fejezetek a Mikológiából. JATEPress, Szeged, 1999.
- KLEMENT, Z.–RUDOLPH, K.–SANDS, D.C. (eds.): Methods in phytobacteriology. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1990.
- LYNCH, J.M.–POOLE, N.J. (Eds.): Microbial ecology. A conceptual approach. Blackwell Scientific Publications, Oxford, London, 1979.
- MADIGAN, M.T.–MARTINKO, J.M.–PARKER, J.: Brock biology of microorganisms. Eighth edition. Prentice Hall International, London, 1997.
- MCKANE, L.–KANDEL, J.: Microbiology, essentials and applications. Second (International) Edition, McGraw-Hill, Inc., New York, Toronto, 1996.
- MONACO, A. P. (Ed.): Pulsed field gel electrophoresis: a practical approach. IRL Press, Oxford University Press, Oxford, New York, Tokyo, 1995, pp. 198.
- NÁSZ I.: Klinikai mikrobiológia. Medicina, Budapest, 1998.
- PRESCOTT, L.M.–HARLEY, J.P.–KLEIN, D.A.: Microbiology. Third edition, Wm. C. Brown, Dubuque, 1996.
- SCHLEGEL, H.G.: General microbiology. Seventh Edition, Cambridge University Press, Cambridge, 1993.
- SIMON, C.–STILLE, E.–DÉNES M.: Korszerű antibiotikum terápia. Springer-Verlag, Budapest, Berlin, 1991.
- SMITH, J.E.–BERRY, D.R. (eds.): The filamentous fungi, Vol. I.–IV. (series), Edward Arnold (Publisher) Ltd., London, 1977–1983.
- STEINER, R. A.–INGRAHAM, J. L.–WHEELIS M. L.–PAINTER., P. L.: General microbiology. 5th edition, Macmillan Education Ltd., 1987.
- SZABÓ I. M.: A bioszféra mikrobiológiája. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1998.
- SZENTIRMAI ATTILA: A mikrobiológia alapjai. KLTE, Debrecen, 1996.
- TALARO, K.–TALARO, A.: Foundations in microbiology. Wm. C. Brown, Dubuque, 1993.
- TUBOLY S. (szerk.): Állatorvosi járványtan I. (állatorvosi mikrobiológia). Mezőgazda Kiadó, Budapest, 1998.

TÁRGYMUTATÓ

2 mm-es plazmid 270
5-Fluorocitozin 260

A, Á

abortív infekció 50
Acetobacter 90
aciklikus elektrontranszport 179
aciklikus foszforiláció 179
Acquaspirillum magnetotacticum 96
Acremonium chrysogenum 153, 257
Actinomyces 107
Actinoplanetesek 109
aerob erjedés 190, 198
aflatoxin 241
Agaricus 156
aggregátumok 126
Agrobacterium 90
Agrobacterium tumefaciens 237, 272
aktin 127
aktív immunitás 231
alegységvakcina 282
Alexander Fleming 256
Algae 158
algák 119, 123
álhifa 141
allergia 240
alternariatoxin 241
Amanita cesarea 156
amenzalizmus 229
amikacin 258
amphilophotrich 71
amphitrich 71
analitikai mikrobiológia 253
anamorf 26, 143
anasztomózis 224

antagonizmus 252
anthrax 103
antibakteriális 251, 257
antibiotikum 251
antifungális 251
antigén-variabilitás 236
antimikrobiális 251
antivirális 251
Apicomplexa 163
apotécium 154
apotéciumos gombák 154
appressórium 242
Archaeobacteria 69, 112
Archiascomycetes 149
Arthrobacter 106
artrokonídiumok 142
Ascomycota 148
Aspergillus 152
aszkopórák 148
Aszkuszos (Tömlős) gombák 148
atrich 71
autofág vakuólum 129
autotróf 167
auxotróf 212
azolok 261
Azospirillum 88
Azotobacter 90

B

Bacillariophyta 160
Bacillus 103
bacillus 69
Bacillus subtilis 258
bacitracin 258
Bacteroides 94

bakteriális etanolos erjedések 191
 bakteriofág 55, 273
 baktériumellenes 255
 bakteroid 90, 173
 barna rothadás 144
 Barnamoszatok 160
 Basidiomycota 154
 Bazidiospórás (Bazidiumos) gombák 154
 Bázisösszetétel 30
 BCG védőoltás 107
 Beggiatoa 99
 belső membrán 135
 benomil 261
 biborbaktériumok 99, 177
 bifunkciós vektorok 274
 binális vírus 44
 binomiális 22
 biológiai mutagenézis 215
 biotípus 24
 biotróf 230
 bipoláris sarjadzás 140
 blasztospórák 141
 borászat 287
 Bordetella 91
 bőrmikózis 239
 Borrelia 88
 botulinum-toxin 234
 botulizmus 105
 Bradyrhizobium 90
 Brucella 91

C, CS

Calvin-ciklus 168
 Campylobacter 89
 Candida 151
 Candida albicans 141, 260
 cDNS géntár 276
 cefalosporin 257
 cellulóz 123
 centromeron 132
 Chlamydia 95
 Chlamydomonas reinhardtii 120
 Chlorophyta 160
 Chrysochyta 160
 Chytridiomycota 145

cidikus 251
 Ciliophora 162
 ciszta 162
 ciszternák 129
 citoplazma 82, 126
 citoplazma-membrán 122
 citoplazmás öröklődés 225
 citoskeleton 126
 citoszol 126
 citrátkör 136
 citrinin 241
 citromsavas erjedés 198
 Claviceps purpurea 153
 Clostridium 104
 Clostridium acetobutylicum 293
 Clostridium botulinum 234
 Clostridium tetani 234
 Colletotrichum gloeosporioides 243
 cönocita micélium 142
 Coprinus lagopus 155
 Corynebacterium 106
 Corynebacterium diphteriae 233
 cosmid 273
 Crabtree effektus 139
 crossing over 134
 Cryptococcus 151
 Cyanobaktérium 100
 Cytophaga 99
 császárgalóca 156
 csillók 124

D

D-cikloserin 258
 deléció 213
 dendrogram 21
 denitrifikálás 173
 dermatomikózis 260
 Desulfovibrio 95
 Desulfovibrio desulfuricans 182
 Deuteromycetes 143
 Dextrán 292
 Dictyostelium discoideum 157
 diftéria-toxin 234
 dikarion (heterokarion) micélium 149
 diktioszómák 129

dimorf gombák 141
 Dinoflagellata 161
 dipikolinát 85
 diplokokkusz 70
 DNS 204
 DNS szekvenálás 30
 DNS-tár 276
 DNS/DNS hibridizálás 30
 dohányvésztoxin 238
 dolipórus 142
 dsRNS 29
 dysenteria 92

E, É

ecetgyártás 290
 ecetsavas erjedés 199
 egysejtfehérje 294
 Ehrlich 16
 ektoplazma 162
 elektroforetikus kariotipizálás 30
 elektroporáció 275
 élesztő plazmid vektor 270
 élesztőgombák 139, 140
 élesztők alkoholos erjedése 191
 elicitor 244
 ellenállóság 230
 előspóra 85
 Embden-Meyerhof-Parnas 184
 endocitózis 129
 endoplazma 162
 endoplazmás retikulum 128
 endospóra 85
 endoszóma 129
 endotoxinok 234
 Enterobacter 93
 Entner-Doudoroff folyamat 184
 Entomophthorales 147
 epizómák 217
 ergoszterin 122
 eritromicin 259
 erjedési folyamatok 190
 Erwinia 93
 Erwinia amylovora 236, 237
 Escherichia 92
 Escherichia coli 233

Eucomycetes 152
 Eubacteria 69
 Euglenophyta 160
 eukarióta 119
 eukarióta élőlények 119
 eukarióta mikroorganizmusok 120
 Eumycota 144
 exocitózis 129
 exospóra 85
 exotoxinok 233
 expresziós vektorok 277
 extracelluláris poliszacharidok 237

F

F₁-F₀ partikulum 136
 fág konverzió 222
 fakultatív 229
 fakultatív anaerob 139
 farmakológia 254
 fehér rothadás 144
 fehérje szekvenálás 29
 fehérjemérnökség 278
 fehérjemintázat 28
 felvételi rezisztencia 262
 fenetikus 21
 fenotípus 206
 fényenergia-hasznosítás 175
 feromon 150
 fertőzési kapu 233
 filogenetika 21
 fimbria 72, 126
 Firmicutes 101
 fitotoxin 245
 flagellum 71
 flekktifusz 95
 Fleming 16
 fluiditás 123
 folyékony mozaik membrán 122
 fordított genetika 278
 foszfo-manno-protein 123
 fotoreaktiváció 214
 Francisella 92
 Fusarium 152
 Fusarium graminearum 294
 Fusarium solani 243

fuzarinsav 246
fúziós fehérje 277

G, GY

Gallionella 98
gáz vakuolum 83
gazdaspecifikus toxin 245
gázgangréna 105
GC-tartalom 30
génbank 273, 276
genetika 203
genetikai manipuláció 267
genetikailag módosított organizmus 267
génmegszakítás 280
génmérnökség 267
genom 203
genotípus 206
gépúska 275
génszabvány 267
gentamicin 258
géntár 276
Geotrichum candidum 151
Giardia 138
glikokalix 73, 123
glikolipidek 123
glikopeptid toxin 238
glikoproteinek 123
glikoziláció 277
glioxiszóma 126
glükán 123
Golgi-rendszer 129
gombaellenes 260
gombák 119, 123
Gram-festés 24, 79
Gram-negatív 25, 75
Gram-pozitív 25, 75
granuláris vagy riboszómás endoplazmás retikulum 128
granulum 84
gránium 137
Griseofulvin 261
gümő 90
gyomorfehérje 89

H

H antigén 71
Haemophilus 94
hangyasavas erjedés 196
hasítási hely 271
hasítófusz 92
hatásmód 252
hatásspektrum 252
helikális vírus 42
helyettesítési vektorok 273
helyspecifikus mutagenézis 215, 279
Hemiascomycetes 149
heterofermentatív 193
heterológ fehérje 276
heterológ humán fehérjék 282
heterothallikus 223
heterotróf 167
Hydrogenobacter thermophilus 96
hifák 141
hiperszenzitív reakció 230
hiszton 82
homofermentatív 193
homothallikus 223
Horecker-ciklus 186
horizontális génátvitel 219
horogképződés 149
hőtüdő ősbaktériumok 114
Humán Genom Projekt (HGP) 275
humánpatogén gombák 239

I

idiomorfok 224
immunológiai módszerek 277
imperfekt 143
induktor 210
inga (shuttle) 274
inkompatibilis 232
inszerció 213
inszerció szekvenciák 218
interfázis 133
interferencia 48
interferon 61
intron 209
inverzió 213

inzerációs vektorok 273
inzulin 281
ivari hormon 150
izelektromos fókuszálás 29
izoenzim analízis 28
izolátum 22
izonikotinsav hidrazid 257
izozmotikus 78

J

jelölt génpróbák 276
Jenner 15
joghurt 291

K

K antigén 74
kapszid 41
kapszomer 41
karboxiszóma 83
kariotípus polimorfizmus 215
kefir 291
kelesztés 289
kemolitotróf 167
kemoorganotróf 167
kemoreceptorok 71
kemotaxis 71
kemoterápiás index 254
kénbaktérium 99, 181
kenyér 289
keresztfal 85
keresztretesztencia 252
kettősszalú RNS 217
kitin 123
kiütéses tifusz 95
kladogram 21
klamidospórák 141, 147
Klebsiella 93
kleisztotécium 154
klón 268
klónozó vektorok 270
klóntár 276
kloramfenikol 259
kloroplasztisz 136
kloroszóma 83

Koch 15
kokkusz 69
kolera 93
kolera-toxin 235
kombinált kezelés 251
kommenzalizmus 229
kompatibilis 232
kompetens 222
kompetíció 229
konidiospórák 142
konjugáció 72, 220, 263
konjugatív plazmidok 217
köpeny 85
kortex 85
Krebs-Szent-Györgyi ciklus 184
kristályviola 80
kriszták 135
kromatin 131
kromoszóma 130, 203
kromoszóma hossz polimorfizmus 31
kubikális vírus 43
külső membrán 76, 135

L

Lactobacillus 105
Lactobacillus bulgaricus 291
Lactobacillus plantarum 289
Leeuwenhoek 14
leghemoglobin 173
Legionella 91
légmicélium 87
légzés 183
légzés folyamata 187
lektinek 236
lépfene 103
lepra 108
Leptospira 88
leptospirozis 88
Leuconostoc 103
Leuconostoc mesenteroides 193
ligáz 270
lipidcseppek 127
lipopoliszaharid 77
Listeria 105
litikus 251

lizoszóma 129
lophotrich 71
LPS-molekula 77
luciferáz 276
Lyme-kór 88

M

M fázis 133
Maduromycetes 110
magnetoszóma 84
magvacska 131
makronukleusz 163
maláta 288
másodlagos metabolitok 27
Mastigophora 162
matrix 126, 135
megelőzés 255
megtapadás 233
meiózis 134
merevgörcs 104
metántermelő ősbaktériumok 113
metántermelők 183
Methylococcus 90
Methylophilus methylotrophus 294
mezoszóma 81
miazma 13
micélium 85, 141
Micrococcus 101
Microspora 138
mikológia 138
mikorrhiza 139
mikotoxin 138
mikrofilamentum 127
mikronukleusz 163
mikrotestek 126
mikrotubulus 127
minimális gátló koncentráció 253
mitokondriális oxidatív foszforilálás 188
mitokondrium 134
mitokondrium membrán folyamatok 189
mitózis 132, 133
Mixobaktériumok 98
mixotróf 167
molekuláris klónozás 267
Mollicutes 111

monofiletikus 26
monoterápia 251
monotrich 71
Mucorales 147
multipoláris sarjadzás 141
murein 75
mutáció 212
mutációs rezisztencia 262
mutagén 212
Mycobacterium tuberculosis 233
Mycobacteriumok 107
Mycoplasma 111
myxamóba 157
Myxomycota 157

N, NY

N-acetil glükózamin 75
N-acetil muraminsav 75
Neisseria 91
nekrotróf 230
Neurospora crassa 153
neutralizmus 229
nitrátlégzés 173
nitrátredukció 182
nitrifikáció 180
Nitrobacter 96
Nitrofuránok 257
nitrogénáz 88, 170
nitrogénforrás 169
Nitrosomonas 96
Nocardia 108
növénykórokozó baktériumok 236
nukleokapszid 41
nukleolusz 131
numerikus 21
nyálkaburok 73
nyálkagombák 157

O, Ö

O-antigén 25
obligát 229
obligát aerob 139
Olpidium brassica 145
onkogének 56

Oomycota 156
operátor 210
operon 210
ostorok 124
oxidatív foszforiláció 183, 185
ősbaktérium 69, 112

P

paliszád 70
Paracoccus denitrificans 183
Paramecium caudatum 120
paraszexualitás 224
párosodási típus 223
passzív immunitás 231
passzív immunizálás 65
Pasteur 14
Pasteur-effektus 139, 190
Pasteurella 94
patogenitás 229
patotípus 24
patulin 241
Paul Ehrlich 255
PCR 34
PCR-technika 269
pektin 123
pellikula 124
penészgombák 143
penicillin 257
Penicillium 152
Penicillium chrysogenum 257
Penicillium notatum 256
pentóz-foszfát ciklus 186
peptid toxin 238
peptidoglükán 75
perfekt 143
periplazmás tér 124
periplazmatikus tér 77
peritécium 154
peritéciumos gombák 152
peritrich 71
peroxiszóma 126
pestis 93
petespórás gombák 156
Phaeophyta 160

Phycomyces 147
Phytophthora infestans 156
pílus 72
pirenoid szemesék 137
Plasmopara viticola 156
plazmidok 82, 216
pleomorff 26
pleomorfizmus 69
polién antibiotikumok 261
polimeráz láncreakció 34
poszttranszlációs módosulás 277
PPLO 111
prionok 60
produktív infekció 50
profág 83
promoter 207
Propionibacterium 107
protein engineering 278
Proteus 93
protoplaszt 78
prototróf 212
Protozoa 161
protozoonok 119
Pseudomonas 89
Pseudomonas phaseolicola 236
Pseudomonas tabaci 238
Pseudomycota 156
pszeudomicélium 141
pszeudotécium 154
Pyricularia oryzae 242
Pyrrhophyta 161

R

R-variáns 73
rajzósejtek 157
rajzospórák 145
RAPD 35
rassz 27
regulátorgén 206
rekombináció 222
rekombináns plazmid 269
rekombináns vakcina 283
represszor 210
restrikciós endonukleázok 267
reverz transzkriptáz 48, 276

rezisztencia 262
 RFLP 32
 Rhizobium 90
 Rhodophyta 160
 Rhodotorula 151
 riboszóma 83, 127
 Rickettsia 95
 RNS 29
 RNS-polimeráz 207
 rodopszin 176

S, SZ

S-variáns 73
 Saccharomyces cerevisiae 120
 Saccharomyces cerevisiae 131, 140, 150, 287
 Saccharomyces sensu lato 149
 Saccharomyces sensu stricto 149
 Saccharomycetales 149
 sajt készítés 291
 Salmonella 92
 Sarcina 103
 Sarcodina 162
 sarjadzó baktériumok 97
 sarjheg 140
 savanyúság 291
 Schizosaccharomyces 149
 sejtciklus 132
 sejtfa 74, 123
 sejtfa szintézis 257
 sejttag 130
 sejtmembrán 81
 SER 129
 sertésorbánc 105
 sex faktor 72
 shiga-toxin 235
 Shigella 92
 Shigella dysenteriae 235
 sima endoplazmás retikulum 129
 sörgyártás 288
 sótfűrő ősbaktériumok 114
 Spirochaeta 88
 spirochaeta 69
 Spiroplasma 112
 sporangiospórák 142, 147

sporoziót 163
 Staphylococcus 102
 start kodon 208
 statikus 251
 Stickland-reakció 174
 stop kodon 208
 Stramenopila 156
 Streptococcus 102
 Streptococcus lactis 291
 Streptococcus pneumoniae 221
 Streptococcus pyogenes 233
 Streptococcus thermophilus 291
 Streptomyces 110
 Streptomyces orchidaceus 258
 Streptomyces orientalis 258
 struktúrgén 206
 szamárköhögés 92
 szatellita vírus 59
 szelektivitás 252
 szeptum 85
 szerotípus 24
 szignál szekvencia 128, 277
 szimbiózis 229
 szinapszis 134
 szinergizmus 252
 szisztéma 239
 szisztémás 260
 sztafilokokkusz 70
 sztreptokokkusz 70
 sztreptomycin 258
 sztróma 137
 szubkután mikózis 239
 szulfátredukáló ősbaktériumok 113
 szulfátredukálók 182
 szulfonamidok 256

T

T-DNS 272
 támadáspont 252
 Taphrina 149
 teichoín 76
 tejsavas erjedések 192
 tejtermékek 290
 teleomorf 26, 143
 tentoxin 246

termikus dimorfizmus 239
 terminális oxidáció 187
 tetanusz 104
 tetanusz-toxin 234
 tetraciklin antibiotikumok 259
 tetrad 70
 Thallobacteria 106
 thallusz 140
 Thermomonospora 110
 Thermus 91
 Thiobacillus 96
 Thiobacillus ferrooxidans 181
 Thiobacterium 96
 Ti-plazmid 90, 272
 tilakoidok 136
 típusörzs 22
 tok 126
 tolerancia 262
 trachoma 95
 transzdukció 222, 263
 transzformáció 221, 263
 transzgénikus állatok 275
 transzgénikus mikrobák 275
 transzgénikus növények 275
 transzkripció 206
 transláció 206
 transzlokáció 213
 transzpeptidáció 78
 transzportfehérje 81
 transzpozonok 218
 Treponema 88
 Trichoderma 152
 trichotécin 241
 trikarbonsav ciklus 187
 trofozoit 162
 tubulin 127
 tudósító (riporter) gén 276
 tumorvírusok 56

U

unipoláris sarjadzás 140
 Uromyces appendiculatus 243
 Ustilago maydis 154

V

vajsavas erjedés 196
 vakcinálás 231
 vakuólum 129
 vankomicin 258
 varietas 26
 vasbaktérium 181
 vegetatív inkompatibilitás 225
 vegetatív vírus 41
 vektorok 267
 vérhas 92
 vezikulumok 129
 Vibrio 93
 Vibrio cholerae 235
 virion 23, 41
 viriongátlás 254
 virionok kimutatása 52
 virionok tisztítása 53
 viroidok 59
 virulencia 229
 virulencia antigén 74
 vírus 23, 41
 vírusellenes 254
 vírusellenes oltóanyagok 282
 vírusfehérjék 45
 vírusfertőzés 46
 vírusgenom 47
 vírusmultiplikáció 46
 vírusnukleinsav 44
 virusoid 59
 vírusok tenyésztése 50
 vírusaxonómia 55
 vírusvakcina 63
 vitaminok 174
 vízi gombák 145
 vörösmozzatok 160

X

Xanthomonas 89

Y

YAC vektor 275
 Yersinia 93

Z

zárvány 84, 277
 zearalenon 241
 zigosporangium 147
 zigospórás gombák 145, 147

zimoszterin 122
 zöld baktériumok 99
 zöldalgák 160
 Zygomycetes 147
 Zygomycota 145, 147
 Zygosaccharomyces rouxii 151

Szerzők:

- Dr. Bíró Sándor**, tanszékvezető egyetemi docens, Debreceni Egyetem, Természettudományi Kar, Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszék
- Dr. Hornok László**, tanszékvezető egyetemi tanár, Szent István Egyetem, Mezőgazdasági- és Környezettudományi Kar, Gödöllő, Mikrobiológiai Tanszék
- Dr. (habil.) Kevei Ferenc**, tanszékvezető egyetemi docens, Szegedi Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Mikrobiológiai Tanszék
- Dr. Kucsera Judit**, egyetemi docens, Szegedi Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Mikrobiológiai Tanszék
- Dr. Maráz Anna**, tanszékvezető egyetemi tanár, Szent István Egyetem, Élelmiszertudományi Kar, Budapest, Mikrobiológiai Tanszék
- Dr. Pesti Miklós**, tanszékvezető egyetemi tanár, Pécsi Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Általános és Környezeti Mikrobiológiai Tanszék
- Dr. Szűcs György**, egyetemi magántanár, osztályvezető főorvos, Állami Népegészségügyi és Tisztiorvosi Szolgálat Baranya Megyei Intézete, Mikrobiológia Osztály, Regionális VírusLaboratórium, Pécs
- Dr. Vágvölgyi Csaba**, tanszékvezető helyettes egyetemi docens, Szegedi Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Mikrobiológiai Tanszék

Lektorok:

- Dr. Deák Tibor**, egyetemi tanár, Szent István Egyetem, Élelmiszertudományi Kar, Budapest, Mikrobiológiai Tanszék
- Dr. Sipicki Mátyás**, tanszékvezető egyetemi tanár, Debreceni Egyetem, Természettudományi Kar, Genetikai és Molekuláris Biológiai Tanszék

A borítón:

A penicillin V termelő *Penicillium chrysogenum* szomatikus hibridizációjával nyert diploid törzs makrotelepének szegregációja: diploid (a sötétzöld szektor), haploid szülők (a sárga és a világoszöld szektorok). Fotó: Pesti Miklós.