

populáció nagyságának érzékelését, quorum érzékelésnek nevezzük. A quorum érzékelés szerepet játszik a mikrobiális biofilm létrejöttében, mely fontos lépés új élőhelyek meghódítása és tápanyaghoz való hozzájutás szempontjából.

Az előadásban bemutatom, hogy milyen hatással van a *P. aeruginosa* két, hierarchikusan szervezett quorum érzékelő rendszerében szerepet játszó jelmolekula különböző koncentrációja a rajzásra.

Kísérleteim során megfigyeltem, hogy a jelmolekula koncentrációja jelentősen befolyásolja a rajzásnak induló kolóniák számát, a rajzás indulásának időpontját és sebességét, valamint a rajzó kolónia területének nagyságát és a rajzás során kialakult telep komplexitását.

A quorum érzékelés sejtsűrűség függő génexpresszió szabályozást jelent. Ez a folyamat kis molekulatömegű jelmolekulák termelésén és azok extracelluláris koncentrációjának érzékelésének képességén alapszik. A kémiai szignálok koncentrációja összefügg az azt termelő mikroorganizmus sűrűségével, azaz a sejtsűrűség függvényében növekszik. A jelmolekula a sejtek számára érzékelhető és lehetővé teszi, hogy az egész populáció egyszerre, összehangoltan változtassa meg fenotípusát a környezeti viszonyoknak megfelelően. Ha a jelmolekula szintje az extracelluláris térben eléri a küszöbértéket, ez változást idéz elő a génexpresszióban. Ez tehát egy szabályozó mechanizmus, mely a sejtpopuláció sűrűségének fluktuációjára reagálva szabályozza bizonyos gének expresszióját vagy represszióját. A *Pseudomonas aeruginosa* esetében azért különösen fontos annak a küszöbkoncentrációnak a meghatározására, melynek hatására a mikrobaközösség megváltoztatja a génexpresszióját, mert egy nagyon invazív és komoly megbetegedést okozó mikroorganizmusról van szó.

Ha sikerül meghatározni ezt a koncentrációt, fertőzések esetén a *Pseudomonas aeruginosa* jelmolekulájával analóg vegyületet adagolva a betegeknek, a kompetitív gátlás jelenségét kihasználva megakadályozható a betegség kialakulása fertőzött egyedekben, így ez egy új gyógymód is lehet a *Pseudomonas aeruginosa* fertőzések gyógyításában.

## **Horváth Zsolt**

### **A calicivírus biológiája**

A vírusokat Dimitri Ivanowsky fedezte fel 1892-ben. Azóta a mikrobiológia fejlődése során több definíciót is megalkottak. A vírusokat csoportosíthatjuk szimmetriájuk szerint. Így beszélhetünk a helikális, binális, kubikális és komplex vírusok csoportjáról. A Caliciviridae a kubikális csoportba tartozik.

A Caliciviridae családra egyszálú, nem szegmentált, positive-sensed RNS jellemző. Maga a család igen nagyméretű, sok tagja csak állatokat fertőz, de van néhány humán patogén képviselője is, mint például a Norwalk-vírus.

A humán patogéneket az 1970-es években fedezték fel. Ezekre a vírusokra jellemző, hogy kisméretűek, változatosak, ellenállóak és rendkívül fertőzőképesek. A fertőzés menetére négy epidemiológiai és klinikai lépés jellemző. A vírus legveszélyesebb tulajdonsága –hajlamos a mutációkra, melynek következtében az antigén szerkezete megváltozik –miatt a járványok többségéért felelősek, fertőzés esetén rövid idő alatt lezajlik a betegség. A gasztróenterális megbetegedés során tüneti kezelés nem ajánlott. Ezek a kórokozók ellen nincs védőoltás, ezért csak megelőzni lehet a betegséget

kialakulását. Vannak olyan esetek, amikor a kórokozó mégis bejut a szervezetbe, ekkor a járvány elkerülése miatt azonnal szólni kell a háziorvosnak és az alapvető klinikai protokollt be kell tartani.

*Almásiné Éva*

### **A *Schizophyllum commune* morfológiai és molekuláris jellemzése**

A *Schizophyllum commune*, vagy magyar nevén hasadtlemező gomba, egy szaprofita bazídiumos gomba. Korhadékevő, fák törzsén él, ember számára ritkán patogén, egyes kultúrákban gasztronómiailag is hasznosítják. Sok mikrobiológiai kutatás modellélőlénye, biotechnológiai jelentőségét a lignocellulóz hatékony bontását megvalósító enzimejei adják. Szakdolgozatomban először is igyekszünk optimalizálni a *S. commune* tenyésztési körülményeit további transzkriptomikai vizsgálatokra. Termőtestképzést követően elkülönítjük a tönköt a kalaptól illetve a lemezeiktől, majd megvizsgáljuk a különböző szervekben éppen jelenlévő RNS-profilt a vegetatív micéliumhoz képest. Ebből a termőtest-képzésben szerepet játszó enzimekről és molekuláris mechanizmusokról igyekszünk a lehető legtöbbet megtudni különböző bioinformatikai módszerekkel.

A tenyésztést megkönnyíti, hogy a gomba Petri-csészéken is növeszthető viszonylag egyszerű táptalajokon. Optimalizálást követően a CYM táptalaj bizonyult a legmegfelelőbbnek. Első lépésként két kompatibilis törzs haploid vegetatív fonalaikat (monokarion) egy csészére egymástól pár centire leoltjuk, majd pár napon belül plazmogámia során a sejtmagok fúzionálnak, és diploid dikarion fonalak jönnek létre. A dikariont CYM táptalajra oltjuk és 5 napig, 30 fokon inkubáljuk őket sötétben, a levegőtől parafilmrel elzárva. Miután a vegetatív fonalak kellően benőtték a csészét, 25-28 fokra helyezük át őket 12-12 órás sötét-fény ciklusra, 7-9 nappal később megjelennek a termőtest primordiumai.

A primordiumokat és termőtesteket különböző fejlettségi állapotokban szüreteljük és fixáljuk, vagy folyékony nitrogénnel azonnal fagyaszttjuk későbbi molekuláris vizsgálatokra. Sztereo mikroszkóppal a termőtesteket vagy egészben vizsgáljuk, vagy megfelelő fixálást, beágyazást követően Vibratómmal 30-50-100 mikrométeres szeleteket vágunk, és ezeket vizsgáljuk.

A molekuláris vizsgálatoknál nem szükséges genomi DNS kivonása, mivel a *S. commune* teljes genomja szekvenálásra került korábban, ezeket az adatokat felhasználhatjuk. Így leginkább RNS-t vonunk ki a sejtekből, ami rendkívüli precizitást igénylő, körülményes feladat. Hosszas optimalizálást követően sikerült megtalálni a megfelelő homogenizálási eljárásokat, kísérleti körülményeket, mintamennyiséget. A kapott mintát 1%-os agaróz gélen futtatjuk elektroforézissel, az eredményt UV-fénnyel világítjuk meg, ha megfelelő, koncentrációját NanoDrop készülékkel lemérjük, és szekvenálásra küldjük.

A jövőben igyekszünk kipróbálni lézer disszekciós technikákat, melynek során 30 mikrométer vastag 3%-os agaróz gélbe vagy paraffinba ágyazott mintáinkból lézernyalábokkal lövünk ki sejtpopulációkat Eppendorf-csővekbe, majd ebből közvetlenül egy speciális kittel RNS-t vonunk ki, majd a mintákat szekvenálásra küldjük. Ezzel a