



EGY *SOLANUM LYCOPERSICUM* L.-EREDETŰ DEFENZIN STABILITÁSÁNAK VIZSGÁLATA

Papp Rebeka^{1,2}, Borics Attila³, Galgóczi László¹, Tóth Liliána¹

¹Szegedi Tudományegyetem, Természettudományi és Informatikai Kar, Biotechnológiai és
Mikrobiológiai Tanszék, Szeged

²Szegedi Tudományegyetem, Biológia Doktori Iskola, Szeged

³HUN-REN Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biokémiai Intézet, Szeged
e-mail: papprebus97@gmail.com

ABSZTRAKT

Napjainkban komoly problémát jelent a fungicid rezisztens növénypatogén gombák által okozott termésveszteség. A probléma leküzdésére új, környezetbarát antifungális stratégiák kidolgozása szükséges, melyek megoldást jelenthetnek a jelenleg használt kémiai-alapú peszticidek egyre csökkenő hatékonyságára, környezetkárosító hatására. A növényi-eredetű defenzinek széleskörű antifungális hatásuknak és alacsony citotoxicitásuknak köszönhetően alkalmasak lehetnek erre a célra. Használatukat azonban korlátozza az a tény, hogy a növények, ezeket a fehérjéket csak kis mennyiségben állítják elő, ezért biofungicidként történő alkalmazhatóságukhoz heterológ expressziós rendszerek létrehozása szükséges. Erre a problémára megoldást keresve, kutatócsoportunk egy paradicsomnövény-eredetű defenzin (K4CBP6) nagy mennyiségű előállítására (6,6 mg/l) alkalmas *Pichia pastoris*-alapú expressziós rendszert hozott létre. Megállapítottuk, hogy a rekombináns K4CBP6 már alacsony koncentrációban (25-50 µg/ml) alkalmazva is számos növénypatogén fonalgomba (*Fusarium spp.*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium herbarum*) növekedését képes gátolni. A K4CBP6 széleskörű mezőgazdasági alkalmazhatóságához, azonban elengedhetetlen a fehérje megfelelő szerkezeti stabilitása, ezért célul tűztük ki a defenzin pH, hő, UV és só toleranciájának vizsgálatát *C. herbarum* fitopatogén fonalgombával szemben. Eredményeink alapján elmondható, hogy a K4CBP6 képes megőrizni antifungális hatását enyhén savas és lúgos közegben, valamint hőkezelést (50°C, 100°C) követően is. A cirkuláris dikroizmus spektroszkópiai (ECD) vizsgálatok alapján, a defenzin rendkívüli hőstabilitással rendelkezik, mivel még 100°C-on sem denaturálódott. A különböző időtartamú (30 perc, 1 hónap) UV kezeléseket követően, a K4CBP6 megőrizte gomba ellenes aktivitását annak ellenére is, hogy az 1 hónapig tartó sugárzás hatására sérült a szerkezete. A K4CBP6 sótolerancia-vizsgálatának eredményei azonban rámutattak arra, hogy a defenzin érzékeny sók (100mM NaCl, és 2mM CaCl₂) jelenlétére, aminek következtében sós közegben elvesztette antifungális hatását. Eredményeink alapján elmondható, hogy a K4CBP6 képes megőrizni aktív szerkezetét szélsőséges környezeti körülmények között is, ami alkalmassá teheti arra, hogy citotoxicitási vizsgálatokat követően, alapjául szolgáljon új biokontroll készítmények kifejlesztéséhez.